

مبادئ فسلجة الاحياء المجهرية

تأليف الدكتورة مها رؤوف السعد

الجمهورية العراقية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

مباديء
فسلجة الاحياء المجهرية

تأليف
الدكتورة مها رؤوف السعد

ـ المحتويات ـ

- مقدمة -

كانت الاحياء المجهرية ولا تزال موضع بحث ودراسة مستمرة منذ ان شعر الانسان بوجودها ورآها في اول مجهر في الفترة بين نهاية القرن السابع عشر وبداية القرن الثامن عشر . ان اول مادرس في علم الاحياء المجهرية كان علاقة هذه الاحياء بالاوبئة والامراض التي كانت منتشرة انذاك . ومنذ ذلك الحين عرفت علاقة الاحياء المجهرية بعوامل اخرى في البيئة كالزراعة والصناعة وغيرها . ان علم دراسة الفعاليات الحيوية في الاحياء المجهرية بدأ في بداية القرن التاسع عشر ومنذ ذلك الحين عرف الكثير عن هذه الفعاليات .

ان هدف هذا الكتاب هو تعريف الطلبة على مبادىء علم الفسلجة في الاحياء المجهرية وذلك بدراسة طرق التغذية ومتطلباتها وتنمية الاحياء المجهرية خارج الجسم الحي والعوامل التي تؤثر على النمو واهم التفاعلات التي تحصل بواسطتها الاحياء المجهرية على الطاقة وكيفية استغلال هذه الطاقة في عمليات تخليق اجزاء الخلية وتراكيبها . ان المعلومات التي ادرجت في هذا الكتاب جاءت تبعا لمفردات المنهج المقرر لطلبة الصفوف الرابعة في كليات العلوم المتخصصين في الاحياء المجهرية الذي يلزمنا بالتقيد به . هناك بعض الجوانب الفسلجية مثل تأثير العوامل الفيزيائية والكيميائية على الاحياء المجهرية او عملية تكوين السبورات من قبل بعض الانواع لم تدرج نظرا لان الطالب يدرسها ضمن مناهج مواضيع اخرى وذلك ابتعادا عن التكرار والاعادة .

وفي الختام نأمل ان نكون بمساهمتنا البسيطة هذه قد قدمنا بعض المساعدة لطلبتنا الاعزاء وكنا قد ساهمنا بعض الشيء في تعريب التعليم والله الموفق .

الدكتورة مها رؤوف السعد

تشرين الاول ١٩٨٠

« الفصل الأول »
اشكال الحياة

تحتل الاحياء الدقيقة موقعا فريدا بين الكائنات الحية ، حيث ان معظمها يتكون من خلية واحدة تعتبر جسم ذلك الكائن الحي . ان لهذا الجسم ابعادا مجهرية لذلك سميت ايضا احياء مجهرية مثل البكتريا والبدائيات والطحالب واحيانا الفطريات . ان هذه الاحياء المجهرية الوحيدة الخلية تقوم بالفعاليات الحيوية وهي بذلك تشبه الاحياء المتعددة الخلايا ، لذا اعتبرت اجسام قائمة بذاتها وليست خلايا منفردة كتلك الخلايا الموجودة في الاحياء المتعددة الخلايا .

تختلف الاحياء المجهرية الوحيدة الخلية عن بعضها البعض من حيث الحجم والشكل والتركيب الداخلي للخلية . قد يحدث احيانا ان تجتمع الكائنات الوحيدة الخلية بمجاميع تأخذ اشكالا مختلفة كالخيوط مثلا . تتميز هذه المجاميع بأنها اكثر تعقيدا في تركيبها من الخلايا التي كونتها ولو ان كلا من هذه الخلايا له كيانه الخاص وفعالياته الحيوية كما هو الحال في بعض انواع البكتريا والطحالب . ان تعدد الخلايا في هذه الاحياء المجهرية يختلف تماما عما نعرفه في الاحياء المتعددة الخلايا والكبيرة كالحيوانات والنباتات العليا حيث تملك الاخيرة تركيباً تمتاز بتعدد الخلايا كالانسجة وعند اجتماع عدة انسجة تتكون الاعضاء التي تكون جسم الحيوان او النبات فمثلا الكبد فهو عضو حيواني والورقة فهي عضو نباتي وكل منهما يتكون من العديد من الانسجة وله وظائف معينة . وهناك مجموعة اخرى من الاحياء تكون في موقع متوسط بين الاحياء الوحيدة الخلية والمتعددة الخلايا وهي الاحياء المتعددة النويات Coenocytic Organisms ان هذه الاحياء لها كتلة كبيرة نسبيا من السايتوبلازم فيها العديد من النويات كما هو الحال في الفطريات اللزجة Slime Mold وفي بعض الاعشاب المائية .

ان معظم الفعاليات الحيوية التي تقوم بها الاحياء المجهرية تتجه نحو تكوين تراكيب الخلية (الخلايا) الجديدة التي تحتاجها عند النمو والانقسام وان المواد التي تتكون نتيجة لهذه الفعاليات تنتهي الى التراكيب المخصصة لها كالجدار والغشاء الخلوي والسايتوبلازم والاسواط وغير ذلك من التراكيب . ان ماتحتاجه الاحياء المجهرية لبناء هذه الاجزاء تستمده عادة من المواد الغذائية التي تحيط بها عادة سواء اكانت هذه المواد بسيطة مثل ثاني اوكسيد الكربون او معقدة مثل الكربوهيدرات والاحماض الامينية والمركبات الاخرى ان الاحياء المجهرية تتميز عن غيرها من الكائنات بأن لديها القدرة على التكيف للمحيط واستغلال المواد والطاقة المتواجدة حولها . ويصح القول بأن هذه الاحياء توجد في اكثر الامكنة وفي معظم الاوقات وان مدة بقاء هذه الكائنات في المحيط تعتمد على مدى تكيفها

للعوامل الفيزيائية والكيميائية الموجودة فيه وخصوصا عند انتقالها من بيئة لأخرى . ان هذا التكيف للعيش في البيئة الجديدة ا او المحيط الجديد يعتمد على قدرتها على تكوين العوامل المساعدة (الانزيمات) الخاصة باستغلال تلك المواد الكيميائية الموجودة في بيئتها وتمكنها من العيش في الظروف الفيزيائية الجديدة . ان هذا التكيف يحدث اما بالطفرات الوراثية او بغيرها ينتج كائن آخر اكثر تلائما للعيش في هذه الظروف الجديدة . الاحياء المجهرية تتصرف في بيئة ما وتتأثر بمجموعة العوامل المتواجدة في تلك البيئة لذا يكون تصرف الاحياء المجهرية في وسط يحتوي على مصدر بسيط للطاقة كغاز ثاني اوكسيد الكربون هو غير تصرفها في وسط او بيئة يحتويان على عوامل عديدة ومتداخلة كالتربة . وان ما يحدثه التداخل في تلك العوامل المتعددة هو نمو ذلك الكائن في تلك البيئة ونستنتج من ذلك ان لكل بيئة كائنات معينة وان مدة بقاء هذه الكائنات في تلك البيئة يؤدي بالنهاية الى تحديد انواع الاحياء المجهرية في تلك البيئة . وعلى سبيل المثال ففي بيئة مائية حارة كالينابيع المعدنية الحارة تعيش الاحياء الاليفة للحرارة Thermophilic وان تدرج هذه العوامل في البيئة ينتج عنه التدرج في التكيف عند تلك الاحياء . اما اذا كان التغير في احد العوامل البيئية فجائيا فان الكائن قد يكمن Dormant او يقوم بتكوين سبورات تمكنه من المحافظة على نوعه وتجعله يتخطى الصعوبات البيئية الفجائية واعادة النوع عند توفر الظروف الملائمة لنموه وتكاثره . ان مدى انتشار كائن مجهري في البيئة لايعني انتشاره الافقي فقط وانما يعني الانتشار العمودي فيها ايضا . فقد يتواجد الكائن المجهري في اعماق البحار او في اعالي الجو وهذه الاحياء تستطيع مقاومة الظروف كالبرودة والاشعاع . ان حصيلة المؤثرات والعوامل البيئية وتغير المصادر للطاقة ينتج عنها تواجد احياء مجهرية تختلف في طبيعة استغلالها لتلك الطاقة وبالتالي تختلف في طبيعتها الغذائية لذلك يمكن تقسيم الاحياء المجهرية بالنسبة الى مصادر الطاقة الى مايلي : ــ

1 ــ ضوئية التغذية PHOTOTROPHIC

ان مصدر الطاقة التي تعتمد هذه الاحياء عليه هو التفاعل الكيمائي الضوئي Photochemical Reaction كما هو الحال في الطحالب ، بكتريا الكبريت الخضراء Green - Sulphur Bacteria مثل النوع كلوروبيوم Chlorobium الذي ينتمي للعائلة Chlorobacteriaceae وبكتريا الكبريت البنفسجية Purple- Sulphur Bacteria مثل النوع كلوروماتيوم Cloromatium الذي ينتمي للعائلة Thiorodaceae وبالبكتريا البنفسجية التي لاتحتوي على الكبريت Non - Sulphur Purple Bacteria والتي تشمل الانواع رودوسبيريلم Rhodspirillum ورودوبزودوموناس Rhodopseudomonas في العائلة Athiorhodaceae والسوطيات الضوئية Phytoflagellates . ان هذه الاحياء

تشبه النباتات في قدرتها على تحويل الطاقة الضوئية الى اواصر كيميائية تحتوي على طاقة عالية مثل آصرة Adenosine Triphosphate (ATP) كما سيبحث في الفصل السادس . ان الاحياء الضوئية التغذية تنقسم بدورها الى قسمين حسب طبيعة المصدر الكربوني .

أ ـ الاحياء الضوئية اكلة الصخور او المعادن Photolithotrophic يعتمد نمو هذه الاحياء بالاضافة للضوء على مصدر خارجي غير عضوي لتغذيتها كما هو الحال في الطحالب وبكتريا الكبريت الخضراء والكثير من بكتريا الكبريت البنفسجية ويستفاد من هذا المصدر غير العضوي كمصدر مختزل (مصدر للالكترونات) للمواد غير العضوية وتحويلها الى وحدات بنائية لبناء تراكيب الخلية . ففي الطحالب (كما هو الحال في النباتات) والطحالب الزرقاء المخضرة والسوطيات الضوئية يكون الماء مصدرا للالكترونات حيث يتأكسد الماء الى الاوكسجين . اما في بكتريا الكبريت البنفسجية فيوجد مصدرا آخر غير الماء هو كبريتيد الهيدروجين الذي يحرر الالكترونات . ان كمية المادة التي تتأكسد مثل (كبريتيد الهيدروجين) تكون ضئيلة وتساوي $\frac{١}{٨٠}$ من كمية ثاني اوكسيد الكربون الذي يثبت في الخلية لذلك ففي هذه الاحياء تكون الطاقة الضوئية هي اهم المصادر للطاقة . اما في الطحالب والاحياء الاخرى التي تحتوي على الكلورفيل مثل الدايتوم Diatoms فأنها لاتحتاج الى مادة خارجية تتأكسد كي تكون المادة المختزلة . ان هذه الاحياء تتخلص من ذرات الاوكسجين المتحررة بتحويلها الى جزيئات وطرحها للخارج . ان تحرر الاوكسجين لايحدث في عمليات التركيب الضوئي للبكتريا كما سيوضح ذلك بالفصل الخاص بهذه العملية .

ب ـ الاحياء الضوئية ذات التغذية العضوية
PHOTOORGANOTROPHIC

يعتمد نمو هذه الاحياء على مصدر خارجي عضوي لبناء تراكيب الخلية مثل البكتريا البنفسجية التي لاتحتوي على الكبريت . اذا كانت المواد العضوية التي تستعملها الخلية لبناء اجزائها وتراكيبها على مستوى من الاكسدة يوازي المستوى الموجود عليه التراكيب الخلوية ، عندئذ تنتفي الحاجة الى مصدر خارجي للالكترونات اي ان هذا المصدر العضوى لايتأكسد ومثال على ذلك البكتريا **Rhodospirillum rubrum** التي تنتمي الى العائلة Athiorodaceae التي لها القدرة على تحويل هيدروكسيبيوتريت الثلاثي 3 - Hydroxybutyrate الى بيتا هيدروكسيبيوتريت المتعددة Poly-β - Hydroxybutrate اما اذا كان المصدر الخارجي العضوي على مستوى من الاكسدة اعلى من المستوى الموجود عليه تراكيب

الخلية عندئذ تتأكسد بعض جزيئات من هذا المركب العضوي وتتحول الى ثاني اكسيد الكربون وتتحرر الالكترونات لاختزال الجزئيات الاخرى من هذا المصدر. اما اذا كان المصدر العضوي بصورة مختزلة اي ان تراكيب الخلية في حالة اكسدة اعلى من هذا المصدر فعندئذ يتأكسد المصدر العضوي للاستفادة من الالكترونات في اختزال CO_2 لعمليات البناء. ان الاستفادة من الطاقة الضوئية في هذه الاحياء تتطلب وجود الصبغات لامتصاص تلك الامواج الضوئية. توجد هذه الصبغات عادة في تراكيب غشائية مثل الكلوروبلاست (في الطحالب). اما في البكتريا والطحالب الخضراء المزرقة فأن الصبغات توجد في تراكيب غشائية تأخذ اشكالا مختلفة فمثلا في نوع كلوروبيوم Chlorobium تكون هذه التراكيب على شكل اكياس منفصلة عن الغشاء السايتوبلازمي ولها اطوال تتراوح بين ١٠٠ - ١٥٠ ميكرون وعرض يتراوح ٣٠ - ٤٠ ميكرون. اما في العائلة ثايوروديسي Thiorhodaceae فالتراكيب الحاوية على الصبغة تكون امتدادا للغشاء السايتوبلازمي وعلى شكل اوعية او اكياس. اما في العائلة اثيوروديسي Athiorhodaceae فأن التركيب الحاوي على الصبغة يكون ايضا امتدادا للغشاء السايتوبلازمي ويتخذ اشكالا مختلفة.

٢ - كيميائية التغذية
CHEMOTROPHIC او CHEMOSYNTHETIC

ان مصادر الطاقة التي تعتمد عليها هذه الاحياء هي تفاعلات كيميائية تجري في الظلام وتسمى معيشتها هذه بالحياة المظلمة (Scotobiotic) كما في معظم انواع الفطريات الحقيقية والغالبية العظمى من البكتريا.

تقسم طرق التغذية في هذه الاحياء الى قسمين بالنسبة للمصدر الكربوني الذي تستفيد منه هذه الاحياء لبناء وحدات تراكيبها الداخلية، فأذا كان المصدر الكربوني غير عضوي تسمى طريقة التغذية الذاتية على الكيمياويات Chemoautotrophy والاحياء تسمى Chemoautotrophic اما اذا كان المصدر الكربوني للبناء عضويا فتسمى طريقة التغذية العضوية Chemoheterotrophy والاحياء تسمى Chemoheterotrophic.

أ - الاحياء ذاتية التغذية.

تعتمد هذه الاحياء على ثاني اوكسيد الكربون كمصدر وحيد للكربون لبناء جميع التراكيب الداخلية لها التي يدخل فيها الكربون ولو ان قابلية الاستفادة من ثاني اوكسيد الكربون لاتقتصر على الاحياء التي تتغذى ذاتيا ولكن تتعداها الى الاحياء التي تتغذى عضويا. ان الاحياء التي تتغذى ذاتيا على ثاني اوكسيد

الكربون تتطلب توفر مصدر غير عضوي للنتروجين والكبريت والمعادن الاخرى في محيط هذه الاحياء ، كما وتتطلب وجود جهاز مختزل لاختزال ثاني اوكسيد الكربون لبناء تراكيب الخلية المختلفة . ان اختزال ثاني اوكسيد الكربون بواسطة هذا الجهاز المختزل يؤدي بالتالي الى اكسدة هذا الجهاز وتوفير الطاقة التي تحتاجها هذه الاحياء . ان طبيعة هذه المادة غير العضوية التي تتأكسد لتوفير الطاقة تعتمد على نوع الكائن وحتى يصح القول بأنها متخصصة بذلك الكائن الحي. مثل البكتريا : ثايوباسيلس دينتريفكانس **Thiobacillus denitrificans** وثايوباسيلس ثايو اوكسيدان **Thiobacillus thio-oxidans** اللتان تستغلان الكبريت والثايوسلفيت ومركبات الكبريت الاخرى غير العضوية .

ان كمية المادة المتأكسدة هي اكثر بكثير مما يحتاجه الكائن الحي لاختزال مايحتاجه من ثاني اكسيد الكربون لذلك تتطلب هذه العملية وجود مادة اخرى تختزل باستلامها ذرات الهيدروجين الباقية . وفي العديد من هذه الاحياء يكون الاوكسجين هو المستلم النهائي لذرات الهيدروجين هذه وعندئذ يسمى هذا الكائن ذو معيشة هوائية اي بمعنى آخر انه يتنفس هوائيا . اما اذا كان مستلم ذرات الهيدروجين مادة غير الاوكسجين مثل النترات كما هو الحال في بكتريا **ديسلفوفيريو** ديسلفيوريكانز **Desulphovibrio desulphuricans** وعندئذ يكون الكائن ذو معيشة لاهوائية اي انه يتنفس لاهوائيا .

ب ـ الاحياء العضوية التغذية HETEROTROPHIC

وهي الاحياء التي ليست لها القدرة على تركيب اجزائها الحاوية على الكربون من ثاني اوكسيد الكربون فقط وتحتاج الى مصدر عضوي للكربون في الوسط . ان المركبات العضوية التي تستخدم من قبل الاحياء المجهرية كثيرة ومنوعة مثل الكربوهيدرات والاحماض الامينية والهيدروكربونات وغيرها . ويمكن القول بأن اية مادة عضوية حاوية على الكربون وموجودة في الطبيعة يمكن استغلالها من قبل الاحياء المجهرية او قد يوجد كائن مجهري يستطيع ان يتغذى عليها . ان الاحياء المجهرية تختلف اختلافا كبيرا في تفضيلها للمصادر العضوية وان هذه الصفة تستعمل للتقسيمات التصنيفية لهذه الاحياء مثل اختبار تخمر السكريات المستعمل بصورة واسعة كصفة تصنيفية للاحياء المجهرية . ان تركيب مركب ذي جزيئين من الكربون لا يحدث بتفاعل مركبين يحتوي كل منهما على ذرة كربون واحدة او بمعنى آخر ان جزيئين من ثاني اوكسيد الكربون لايتحدان لتكوين مركبا اخرا له ذرتان من الكربون ، حيث وجد في جميع التفاعلات المعروفة والتي يتثبت فيها ثاني اوكسيد الكربون تتطلب وجود مركب له ذرتان من الكربون على الاقل لكي تضاف اليه ذرة أخرى من ثاني اوكسيد الكربون . ان ثاني اوكسيد الكربون يدخل

عادة في مجموعة الكربوكسيل (COOH) لنواتج التفاعلات . ان ذلك لايتعارض مع فكرة حدوث تفاعل أو كاربوكسله Carboxylation كتفاعل اولي لذاتية التغذية .

ان اي تفاعل من هذه التفاعلات وفي عضوية التغذية لاتستعمل كميات كبيرة من ثاني اوكسيد الكربون لبناء وحدات او تراكيب الخلية ولكنه ضروري لبدء نمو الزرع ان وجود ثاني اوكسيد الكربون ولو بكميات ضئيلة اساسي جدا لبدء نمو عضوية التغذية ووظيفته تكوين حوامض ثنائية الكربوكسيل ، مثل حامض الكلوتاميك والاسارتيك . ان بعض البكتريا التي تتغذى عضويا تستعمل ثاني اوكسيد الكربون كمستقبل رئيسي لذرات الهيدروجين (اي انها المادة المتأكسدة الرئيسية) وذلك عند نموها اللاهوائي وكمثال على ذلك تكوين حامض الفورميك

$$HCOOH \rightleftharpoons H_2 + CO_2$$

واحيانا يختزل ثاني اوكسيد الكربون الى الميثان

$$4H_2A + CO_2 \longrightarrow 4A + CH_4 + 2H_2O$$

ان (H_2A) هي مادة عضوية

ان الاحياء ذاتية التغذية وعضوية التغذية لها القدرة على تثبيت ثاني اوكسيد الكربون . ربما يتبادر الى الذهن عن الفروق بين طبيعة هاتين الطريقتين في المعيشة . لقد وجد ان الفرق هو بالغالب في طريقة تثبيت ثاني اوكسيد الكربون وان ذاتية التغذية تملك نوعين من الانزيمات هما فوسفورايبلوكاينيز (phosphoribulokinase) وكاربوكسيد سميوتيز (carboxydismutase) ان فقدان هذين الانزيمين يحولان الكائن المجهري من ذي التغذية الذاتية الى عضوية التغذية .

ان تقسيم الاحياء المجهرية الى ذاتية التغذية وعضوية التغذية هو غير حدى حيث توجد بعض البكتريا التي تنتمي الى عتر من العائلة ثايوروديسي Thiorhodaceae التي لها القدرة على المعيشة على كحول ثنائي او ان تعيش على ثاني اوكسيد الكربون كمصدر لبناء بعض تراكيبها ، كذلك بعض العتر من جنس هيدروجيوموناس Hydrogenomonas التي لها القدرة على بناء تراكيبها من ثاني اوكسيد الكربون مع حاجتها الى وجود بعض الفيتامينات في الوسط لذلك اقترح الاصطلاح (المعيشة المختلطة Mixotrophy) لهذا النوع من المعيشة .

الفصل الثاني
زرع الاحياء المجهرية

١ ـ الاوساط :

عند تنمية الاحياء المجهرية تستعمل الاوساط الزرعية البسيطة والمعقدة لتوفر الطاقة والوحدات الاساسية لبناء اجزاء الخلية وتراكيبها . من اهم هذه الوحدات الاساسية هما مصدري الكربون والنيتروجين لان جميع هذه الاحياء تشترك في حاجتها لهاتين المادتين لبناء تراكيب خلاياها . وبالاضافة الى هاتين المادتين الاساسيتين تحتوي الاوساط الزرعية بانواعها على ٧٠٪ ـ ٩٠٪ ماء مما يوفر بعض المعادن التي تحتاجها الاحياء بكميات ضئيلة جدا مثل النحاس والخارصين وغيرهم كما يحتوي الوسط على الاملاح المعدنية والفيتامينات ومساعدات النمو والغازات مثل الاوكسجين او غازات اخرى والدوارىء (Buffers) . وعند اختيار الوسط الزرعي الملائم لنمو كائن مجهري معين يجب توفير هذه المواد بصورة متوازنة وبتراكيز معينة للحصول على نمو جيد . قد يخطر ببال البعض ان زيادة تراكيز محتويات الوسط الزرعي ينتج من زيادة في النمو وهذه الفكرة غير معقولة وذلك لان بعض محتويات الوسط الزرعي اذا زادت على تركيز معين قد تسبب تثبيط النمو وليس زيادته وقد تصل الى درجة تصبح مكونات الوسط سامة كما هو الحال بالنسبة لاملاح الفوسفات غير العضوية حيث تكون سامة للعديد من الطحالب عند وجودها بتراكيز عالية في الوسط . واذا زادت هذه المكونات الغذائية عن التركيز المعين فقط لاتستغل بالدرجة المثلىٰ وتعاد الى الوسط الزرعي على شكل مركبات عرضية للنمو ، فعلى سبيل المثال اذا زاد المصدر الكربوني عن الحاجة للكائن المجهري يحول الكربون الزائد اثناء عملية التنفس الى ثاني اوكسيد الكربون .

الاوساط الزرعية قد تكون بسيطة المكونات او معقدة فمثلا الاوساط الزرعية التي تستعمل لتنمية الاحياء ذاتية التغذية تكون بسيطة عادة وذلك لقدرتها على بناء التراكيب المعقدة لخلاياها من مواد بسيطة فقد تحتاج هذه الاحياء للنمو الى بعض الاملاح غير العضوية والماء ومصدر النيتروجين . اما مصدر الكربون هنا فيكون على الاكثر ثاني اوكسيد الكربون المذاب من الهواء في الوسط . ومن ناحية اخرى فأن الاحياء المجهرية النحسة تحتاج عادة الى اوساط زرعية معقدة التركيب لنموها وذلك لعدم قدرتها على تصنيع تراكيبها من مواد بسيطة . هاتان الحالتان ، ذاتية التغذية والنحسة تقعان على طرفي التقسيمات من الاحياء عند تحضير اوساط زرعية لها . اما الحالات الأخرى فأنها تحتاج الى اوساط زرعية تقع بين هذين المثالين .

تقسم الاوساط الزرعية البسيطة والمعقدة الى قسمين رئيسيين : الاوساط الزرعية الطبيعية والاوساط الزرعية الصناعية او المصنعة . الاوساط الزرعية الطبيعية هي الاوساط التي تستعمل لتنمية الاحياء وهي على طبيعتها دون اضافات وان مكوناتها الدقيقة غير محددة كالدبس وعصير الذرة او فضلات مصانع الاغذية . اما الاوساط الزرعية الصناعية فهي التي تكون مكوناتها محدودة ومعلومة وان كل جزء من هذه المكونات يكون نقيا نسبيا وتحدد كميته في الوسط . وفي كثير من الاحيان تكون الاوساط الزرعية الصناعية حاوية على مركب او اكثر بكمية او بتركيز مجهول ، فمثلا اذا احتاج الكائن المجهري كي ينمو الى بعض المركبات النيتروجينية المعقدة فتضاف في الحالة الى الوسط بعض المركبات مثل مصل الدم او بروتينات مهضومة لذلك لايمكننا معرفة تراكيز هذه المكونات بصورة دقيقة فيصبح الوسط مصنعا ولكنه حاوي على مواد بصورتها الطبيعية فعندئذ يمكن تسمية هذا النوع من الاوساط بالشبه الصناعي او قد يحصل العكس فقد يحتاج الكائن الحي المجهري الى مواد بروتينية لتوفير النيتروجين بكميات قد تزيد على مايحتويه الوسط الطبيعي لذلك يمكن اضافة بعض الاملاح الحاوية على النيتروجين الى الوسط لهذا الغرض مثل املاح الامونيا او النترات او اليوريا . اذ ان الوسط شبه صناعي قد يكون اصله وسطا صناعيا مضافا اليه المركبات الطبيعية او وسطا طبيعيا مضافا اليه بعض الاملاح .

أ ــ الاوساط الزرعية الطبيعية :

هي الاوساط الحاوية على المواد المغذية للاحياء المجهرية وهي على هيئتها الطبيعية فمثلا المصدر الكربوني او النيتروجين في هذه الاوساط لايكون على هيئة املاح تضاف الى الوسط ولكن يكون بصورة اقرب الى المكونات الطبيعية للخلية كما هو الحال في الوسط الحاوي على السكر السداسي او المواد البروتينية . ان الكائن المجهري يمكنه استخدام هذه المركبات في بناء وحدات تراكيبه بصورة اسهل مما لو كانت على شكل املاح تضاف الى الوسط . اما من ناحية الاملاح غير العضوية فأنها لاتكون مشكلة في الاوساط الزرعية الطبيعية لأن الايونات الموجبة والسالبة لهذه الاملاح تتوفر بصورة كافية عادة ولكن عندما يحتاج الكائن الحي الى كميات وافية منها فيمكن اضافتها الى الوسط على شكل فوسفات الامونيوم او كبريتات المغنسيوم او الامونيوم . قد تحتوي بعض الاوساط الزرعية الطبيعية على مواد سمية تعيق نمو الاحياء لذلك وفي مثل هذه الاحوال يجب معاملة تلك الاوساط لازالة السموم قبل استعمالها . من هذه السموم عنصر النحاس الذي يؤثر على فعالية بعض الانزيمات الحساسة به لذلك يجب معاملة الوسط بنوع معين من الاصماغ الايونية **Ion-Exohange Resins** او غيرها لازالة هذه السموم .

امثلة على بعض الاوساط الزرعية الطبيعية :

١ ــ الدبس : وهو احد النواتج العرضية لصناعة السكر من القصب او غيره وهي السوائل المركزة اثناء عملية تنقية السكر . تطلق على هذه السوائل اسماء مختلفة حسب خطوة التنقية التي استخلصت منها . احد انواع هذه السوائل هو السائل الاسود Black Strap ويستعمل كوسط للتخمر في الصناعات . يحتوي هذا السائل على ٣٠٪ من السكروز و ٢٢٪ من سكري الفركتوز والكلوكوز الناتجان من فعل انزيم الانفرتيز الموجود بصورة طبيعية في القصب على السكروز اضافة الى سكريات معقدة اخرى وبعض المواد غير الكربوهيدراتية . ويحتوي الدبس ايضا على ايونات غير عضوية وعلى احماض عضوية تشمل حوامض الاكوتنيك ، الماليك ، الستريك ، اللبنيك ، الفورميك ، الخليك ، البروبيونك . اما مصدر النيتروجين فمعظمه الاحماض الامينية وخاصة حامض السبارتيك والكلوتاميك الناتجان من ازالة الامونيا من القاعدتين اسبارجين وكلوتامين كذلك يحتوي على فيتامين مقاوم للحرارة والقاعدة مثل مايو ــ انوستول والنياسين وحامض البانتوثينك ، الرايبوفلانين وكميات قليلة من البايوتين . واضافة الى ذلك فأنه يحتوي على مركبات حاوية على الفسفور العضوي مثل الاينوسيتول السداسي الفوسفات على شكل املاح للكالسيوم او المغنيسيوم .

وهناك نوع آخر من الدبس اكثر احتواءاً على السكر (٧٠٪ ــ ٧٥٪ سكر) ويسمى انفرت دبس ، يحوي هذا السائل سكر القصب المتحلل الى الكلوكوز والفركتوز اضافة الى السكروز لذلك فهو اكثر تركيزا من الاول ويستعمل في الصناعة ايضا وبصورة اوسع من الدبس السائل الاسود لاحتوائه على نسبة اوطأ من السكر غير القابل للتخمر والاملاح والنوع الثالث من الدبس والذي يصنع عند تنقية السكر من البنجر . ان هذا السائل يشبه دبس قصب السكر ولكنه اقل احتواء على البايوتين لغرض نمو الخمائر في الصناعات التي تنمى فيها الخمائر ويضاف قليل من مولاس السائل الاسود .

٢ ــ عصير الذرة

وهو سائل عرضي يستخلص من الذرة بالماء عند تحضير النشا والسكر منها . يستعمل هذا الوسط المغذي بصورة واسعة في صناعة البنزيل بنيسلين او مايسمى بنيسلين| ــ ج وذلك لاحتوائه على فنيل اثيل امين وهو يستعمل الآن للحصول على العلف وفي صناعات اخرى . يحتوي هذا العصير على كميات متناسبة من المصدر الغذائي الكربوني والنتروجيني وعلى املاح معدنية تساعد على نمو الاحياء فهو يحتوي على ٤٪ (وزن/ حجم) من النتروجين وعند تحلله المائي يعطي العديد من الاحماض الامينية . ان اكثر من ربع نتروجينه هو الحامض الاميني الانين اما

الحامضان الامينان الارجنين والكلوتمين فيشكل كل منها حوالي ٨ ٪ من النيتروجين ، والحامض الاميني ليوسين ٦ ٪ ، والبرولين ٥ ٪ ، والايسوليوسين ٣,٥ ٪ ، والثريونين ٣,٥ ٪ ، والفالين ٣,٥ ٪ والفنيل الانين ٢ ٪ ، والحامض الاميني الميتايونين الحاوي على الكبريت ١ ٪ ، والسيتن ١ ٪ . اما المصدر الكربوني فهو حامض اللاكتيك والسكريات المتعددة المعقدة التركيب والتي تشبه الصمغ وكذلك السكريات المختزلة . اما المعادن فيشكل الكالسيوم ١ ٪ من وزنه الجاف الفسفور ٢,٥ ٪ والبوتاسيوم ١,٥ ٪ . والفيتامينات فيحتوي منها الرايبوفلافين والنياسين وحامض البانتوثينك والبايوتين والبيريووكسن ويعتمد وجود هذه المحتويات وكمياتها المضبوطة في الخلاصة على طريقة زراعة الذرة وعلى استخلاص العصير منها . لذلك يتوجب تعين تلك الكميات بصورة مضبوطة في كل مرة يستعمل فيها هدا الوسط المغذي في عملية التخمر الصناعية وخاصة اذا اختلف مصدر الذرة وطريقة تحضير العصير . ولكثرة الحامض الموجود في عصير الذرة فيجب اضافة مايقارب ١ ٪ (وزن/ حجم) من كربونات الكالسيوم لرفع تركيز ايون الهيدروجين الى ما يلائم نمو الاحياء المجهرية .

٣ ـ باقلاء الصويا : تحتوي باقلاء الصويا على حوالي ٤٠ ٪ (وزن/ حجم)) بروتين و ١٨,٥ ٪ ـ ٢٢ ٪ دهن ، و ١٥ ٪ كربوهيدرات ، ٥ ٪ رماد . كما وتحتوي على الماء . ويحتوي الرماد على عناصر البوتاسيوم والفسفور والكبريت والمغنيسيوم والحديد .

تستعمل خلاصة باقلاء الصويا بعد ازالة الدهون بواسطة المذيبات كاوساط غذائية او اضافات للاوساط الغذائية المستعملة للتخمر . والخلاصة هذه تحتوي تقريبا على ٨ ٪ (وزن/ وزن) نتروجين . ان نتروجين باقلاء الصويا معقد المكونات بحيث لا تتقبله الاحياء المجهرية كتقبلها لنتروجين الذرة .

ب ـ الاوساط الزرعية الصناعية :

هي الاوساط المعلومة التراكيب والتراكيز اي ان مكوناتها معروفة بصورة مضبوطة ان بعض مكونات هذه الاوساط طبيعي المنشأ كالسكر مثلا ، ولكن المهم عند استعمال هذا السكر ان يكون نقياً رغم صعوبة ذلك عند تحضيره لذا فأنه يكون بالتالي محتوياً على مواد غير معروفة بالدقة المطلوبة لهذه الاوساط . تحتوي الاوساط الزرعية الصناعية البسيطة على مصدر كربوني مثل الكلوكوز وهو بنفس الوقت مصدر للطاقة كما ويحتوي على مصدر غير عضوي للنتروجين ويكون هذا عادة بشكل املاح مثل كلوريد او كبريتات او فوسفات الامونيوم كما ويحتوي على

املاح اخرى غير عضوية في محيط سائل داريء (بفر) . وان هذه الاوساط توفر جميع ماتحتاجه الاحياء الدقيقة غير الطفيلية عضوية التغذية ، اما الاحياء الدقيقة الطفيلية فتحتاج الى اوساط مصنعة تكون اكثر تعقيداً لذلك يمكن تنميتها في اوساط زرعية صناعية معقدة وحاوية بالاضافة الى المكونات السابقة على بعض الاحماض الامينية والقواعد النووية مثل البيورين والبريميدين وغيرها من الفيتامينات . ان الاوساط الزرعية المصنعة لها فوائد حيث ان بالامكان اضافة او حذف اي مركب حسب حاجة الكائن المجهري الذي يراد تنميته للحصول على اكبر كمية من النمو والمادة التي يعتمد عليها الكائن بصورة اساسية يمكن تجهيزها بكميات اكبر واضافة هذه المادة بصورة مستمرة للوسط الزرعي . من الممكن معرفة هذه المواد التي يعتمد عليها الكائن الحي اكثر من غيرها بواسطة تأشيرها بالمواد المشعة .

ان الطريقة المثلى لتحضير الاوساط الزرعية الصناعية بصورة عامة هي تحضير خليط اساسي يحتوي على المواد المعدنية غير العضوية التي تحتاجها الاحياء ويضاف الى هذا الخليط مصدر للكربون ومصدر للطاقة ومصدر للنتروجين . تختلف هذه المواد الاضافية حسب الكائن المجهري المعين والمراد تنميته . فمثلا يتم تحضير الخليط الاساسي من ماء واملاح معدنية مثل فوسفات الكالسيوم احادية الهيدروجين او ثنائيته وكبريتات الحديدوز وكلوريد الكالسيوم واملاح بعض المعادن (المسماة العناصر Trace Elements) مثل المنغنيز ، والنحاس ، والخارصين بكميات قليلة جدا ، ويضاف لهذا الخليط الاساسي ملح كلوريد الامونيوم . فأذا زرع هذا الوسط بكائن مجهري ينمو تحت ظروف هوائية عندئذ يكون ثاني اوكسيد الكربون هو المصدر الكربوني للنمو ، فاذا جرت ظروف النمو في الظلام فأن الكائن المجهري الوحيد الذي يستطيع النمو في مثل هذا الوسط هو البكتريا النتروجينية Nitrifying Bacteria ذاتية التغذية مثل نيتروسوموناس Nitrosomonas التي تتمكن من استغلال ثاني اوكسيد الكربون كمصدر كربوني والحصول على الطاقة من اكسدة املاح الامونيوم كما وتجهز هذه المادة مصدر النتروجين لهذه البكتريا واذا اضيف الى هذا الوسط سكر العنب (الكلوكوز) وكلوريد الامونيوم وكانت ظروف التنمية هوائية فأن انواعاً عديدة من البكتريا والفطريات تستطيع النمو في هذا الوسط لان السكر سيكون مصدر الكربون والطاقة لهذين النوعين من الاحياء المجهرية واذا كانت التنمية بغياب الاوكسجين (لاهوائي) عندئذ يمكن ان ينمو فيه العديد من البكتريا اللاهوائية والتي تستطيع الحصول على الطاقة من تخمر السكر الموجود في الوسط . واذا اضيف لهذا الخليط الزرعي الاساسي السكر وكلوريد الامونيوم وفيتامين كحامض النيكوتنيك عندئذ تستطيع احياء اخرى ان تنمو فيه بالاضافة لما سبق ذكره والتي تحتاج الى هذا

مثل بروتيس فلكاريز **Proteus vulgaris** وعلينا ان لاننسى هنا توفير ظروف النمو الاخرى كالحرارة وتركيز ايون الهيدروجين والضغط الازموزي الملائم .

جـ ـ الاوساط الزرعية شبه الصناعية :

هي الاوساط التي تكون بعض محتوياتها مواد طبيعية . تصنع هذه الاوساط من اضافة مواد معلومة . وبكميات مقدرة الى وسط زرعي طبيعي مثل وسط سكر الكلوكوز ـ البطاطا . والبطاطا في هذا الوسط هي الجزء الطبيعي من الوسط وان كمية ماتحتويه البطاطا من مكونات طبيعية تختلف باختلاف عمر الساق وانواعه ، لذلك يحتوي هذا الوسط على بعض المكونات المجهولة او بتراكيز مجهولة . يمكن ان تصنع هذه الاوساط من اضافة مادة الاغاروز الى اي وسط مصنع فيصبح بذلك وسطاً شبه صناعي لأن مادة الاغاروز هي مواد طبيعية اصلها اعشاب بحرية وبعض مكونات مجهول .

د ـ الاوساط الزرعية الانتقائية :

هي الاوساط الحاوية على مواد تثبط نمو بعض الاحياء الدقيقة وبنفس الوقت تساعد على نمو احياء معينة اخرى . وباستعمال تلك الاوساط يمكن الاحياء الدقيقة المتنوعة والموجودة في خليط والحصول على زرع نقي لاحداها .

ومثال على ذلك : وسط ماكونكي لعزل البكتريا المعوية وتشخيصها المبدئي . يحتوي هذا الوسط الزرعي على املاح الصفراء التي تثبط نمو البكتريا غير المعوية وتسمح بنمو البكتريا المعوية ، كما ويحتوي الوسط على الصبغة الحمراء المتعادلة والتي تساعد على التعرف على البكتريا المعوية المخمرة لسكر اللاكتوز والبكتريا التي لاتخمره . حيث تتلون الاولى باللون الاصفر الوردي وتبقى الاخرى عديمة اللون . ان هذا الوسط يعتبر ايضاً من الاوساط الزرعية الكاشفة لاحتوائه على مادة متغيرة اللون نتيجة للفعاليات الحيوية للاحياء النامية فيه حيث يساعد على تشخيص تلك الاحياء .

هـ ـ الاوساط الزرعية الغنية :

هي الاوساط الزرعية السائلة التي تساعد على انقسام ونمو نوع معين من الاحياء في خليط معين وذلك باحتوائها على مادة تساعد على نمو ذلك النوع بصورة اوسع من الانواع الاخرى غير المرغوب فيها او باحتوائه على مادة تثبط نمو الاحياء غير المرغوب فيها . فمثلا وسط التراثايونيت السائل الذي يثبط نمو

بكتريا القولون ويسمح بنمو البكتريا المرضية المسببة للتيفوئيد والباراتيفوئيد بالنمو خلال مدة ١٢ ـ ١٨ ساعة يعتبر وسط يغني نمو البكتريا المرضية ويثبط نمو البكتريا غير المرضية وهي بكتريا القولون وذلك عند تشخيص سبب التيفوئيد .

و ـ **الاوساط الزرعية الخاصة :**

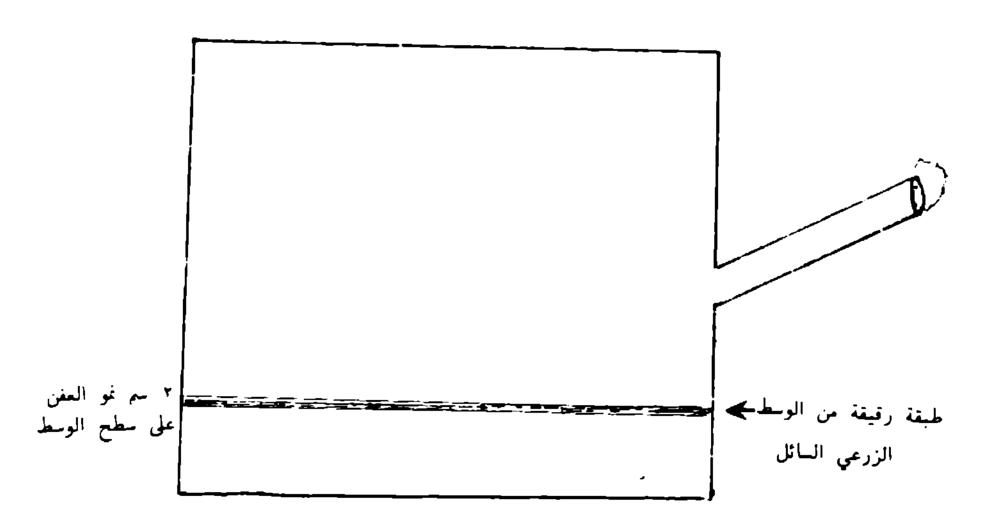
تستعمل بعض الاوساط الزرعية لتنمية انواع معينة من الاحياء المجهرية وكذلك تمكننا من التعرف على عتر تلك الانواع . من هذه الاوساط الزرعية وسط لونشتاين ـ جنسن **Lowenstein-Jensen** المستعمل لتنمية الميكوبكتريا **Mycobacteria** المسببة لمرض السل في الانسان يحتوي هذا الوسط على صبغة المالاكايت الخضراء التي تثبط نمو الاحياء الاخرى غير الميكوبكتريا واحتوائه ايضاً على مادة الكليسرول التي تساعد على نمو مسبب مرض السل البشري هذا وان شكل النمو على هذا الوسط يسهل تشخيص السل البشري عن مسبب السل البقري . الوسط الاخر الذي يعتبر خاصاً ايضاً هو وسط اللحم المفروم المستعمل لعزل البكتريا اللاهوائية للنوع كلوستريديا **Clostridia** . ان وجود اللحم المفروم في الوسط يساعد على نمو خلق جو لاهوائي تحتاجه هذه البكتريا للنمو .

٢ . **اشكال الزرع**

ان من اهم صفات الاحياء المجهرية هي قدرتها السريعة على النمو . ان هذه الظاهرة ليست مهمة فقط للحصول على اعداد هائلة من هذه الاحياء لدراسة صفاتها الفسلجية والبايوكيميائية أو لتصنيعها مثل صنع اللقاحات والخمائر وغيرها ولكن للحصول ايضاً على منتجاتها مثل الكحول والمضادات الحيوية والمذيبات ويمكن الحصول على هذه الاعداد بسهولة وذلك بزرع الخلايا بعد تنقيتها على الاوساط الزرعية الملائمة ووضع تلك المزارع تحت ظروف فيزيائية ملائمة لنمو الكائن المجهري تحت الدراسة . ان سرعة النمو هذه تاتي نتيجة لسرعة انقسام الخلية ونضرب مثلا على ذلك بكتريا اشريشيا كولاي **Escherichia coli** التي تستطيع الانقسام ثلاث مرات في الساعة اي ان كمية الزرع تتضاعف كل عشرون دقيقة ، واذا استمر هذا الزرع من النمو وبنفس السرعة لمدة يومين فقط فسوف تتولد لدينا كتلة من هذه البكتريا اكبر بكثير من كتلة الارض . ان هذا النوع من الزرع هو من الطرق المتبعة يومياً في مختبرات الاحياء المجهرية ويعتقد البعض ان هذه الطريقة هي الاقرب الى النمو الطبيعي للاحياء المجهرية في البيئة . ولكن في الحقيقة ان هذه الطريقة هي ابعد ماتكون عما يحدث فعلا في الطبيعة وان تصرف الاحياء المجهرية في هذه المزارع بعيدة عن تصرفها في الطبيعة وذلك للاسباب التالية : ـ

١ ـ ان هذه الاحياء وعند وجودها في الطبيعة فهي نادراً ماتكون مغلقة ومعزولة في ذلك المحيط .
٢ ـ ان المواد الغذائية من الصعب توفرها بتراكيز كافية للنمو الافضل لهذه الاحياء .
٣ ـ أن الاحياء في الطبيعة لاتكون معزولة بمزارع نقية كما هو الحال في المختبر
ان الطريقة الاعتيادية لزرع وتنمية الاحياء المجهرية هي ماتسمى المزرعة الخاملة او المزرعة المستقرة لأن الظروف التي تنمو فيها تلك الاحياء تعتبر العامل الرئيسي الذي يحدد طبيعة النمو ، وان هذه الظروف واهمها الوسط الزرعي تعتبر مستقرة وغير متغيرة ، ولكن الذي يحصل في هذه المزارع هو ان طبيعة الوسط تتغير نتيجة للنمو فالوسط الزرعي لايبقى بعد فترة من النمو وبنفس المحتويات عند بدء الزرع كما ان الاحياء النامية فيه قد تنتج بعض المواد وتفرزها الى الخارج في الوسط لذلك تكون تلك المزارع متغيرة وغير مستقرة كما جاء في تعريفها ، ولكننا لو حاولنا ان نتصور بأن المقصود بالمستقرة هنا هو استقرار ظروف الزرع ، وفصلنا هذه الظروف عما يتنج من النمو نجد ان المزرعة الراكدة تعتبر كذلك اذا ما اعتمدنا على طبيعة الظروف فقط . ان الزرع الذي لاتتغير ظروفه ويعتبر مستقرا يطلق عليه ايضاً الزرع الكمي الثابت **Batch** ، في هذا النوع من الزرع يصل النمو الى اقصاه مرة واحدة ثم يبدأ بالهبوط ولا يبقى النمو مستمراً وبالطاقة القصوى حتى ولو تمت تهوية الزرع بالهز او بضخ الهواء . ان الزرع المهزوز او الذي تجري تهويته بصورة مستمرة يعتبر زرعا راكدا لأن صفات ظروف النمو غير متغيرة . استعملت المزرعة الخاملة او المستقرة في صناعات العفن في بدايته . ان هذه المزرعة تشبه الطريقة الاعتيادية والمتبعة في تنمية الاحياء المجهرية على سطح الاغاروز المغذي . اما الاناء الذي يوضع الوسط فيه فيحتوي على فتحة جانبية لادخال الزرع ويمكن استعمالها ايضاً لأخذ نماذج لفحصها بين فترة واخرى كما هو مبين في الشكل (١) . يمكن استعمال اي اناء كالصفيحة الرقيقة او طبق بتري لهذا الغرض . تعقم هذه الاواني بعد وضع الاوساط الزرعية فيها ثم تبرد وتلقح بالعفن ومن الافضل استعمال السبورات للتلقيح . تطفو هذه السبورات على السطح وبعد نموها تكون جزراً من النمو تطفو على السطح وعند تولد الهيفات تحصل الاستطالة فيها في مناطق تقع بعد القمة . فاذا كان للهيفات تقسيمات عرضية مكونة بذلك الاجزاء فأن هذه الاجزاء لاتستطيل بصورة محسوسة اما الهيفات التي لاتتجزأ بحواجز (سينوسيتية) فيحدث النمو فقط بين القمة والمنطقة التي تنشأ فيها اصغر الفروع . ان الزيادات الحاصلة في قمة الهيفات وفي زرع حديث تحدث بسرعة تناسبية طردية مع الطول الكلي للهيفات . وبصورة عامة

تبلغ سرعة النمو ٢٠٠ ــ ٤٠٠ ميكرون في الساعة ولكن هذه السرعة تأخذ بالابطاء بعد فترة من الزمن. يكون المايسيليم غشاء يطفو على سطح الوسط الزرعي اذا كان الزرع راكداً اما اذا كان مهزوزاً فتنمو هذه الاحياء بشكل مزارع كروية تشبه الخرز (Bead-like) . تنمو السبورات الجديدة في الطبقة العلوية من الزرع حيث تستلم كمية وافية من الاوكسجين ولكن كمية الغذاء التي تصل اليها قليلة نسبياً ، اما طبقة الماسيليم فتمتد عميقاً حيث تكون كمية الاوكسجين المذاب محدودة وتتوفر كميات كبيرة نسبياً من الغذاء تكون الحالة متدرجة بين هاتين الطبقتين العلوية والسفلية . تستعمل هذه الطريقة لتنمية الفطريات التي تصعب تنميتها في المزارع العميقة داخل السوائل المغذية مثل انواع معينة من فطريات بزيدية Basidiomycetes .



الشكل (١) يوضح طريقة الزرع الخامل للعفن

ان المزرعة الخاملة او المستقرة لاتؤمن الحصول على كميات وافية من الاحياء المجهرية وخاصة في الصناعات وذلك لأن كمية المواد الغذائية المتوفرة للنمو تكون وافية عند بداية الزرع وتنضح بعد فترة من الزمن وهذا لايعني ان الكائن المجهري ينمو في البداية في محيط وافر الغذاء وربما تنضح احدى مكونات الوسط بصورة اسرع من غيرها وهذه المادة تكون المعتمدة عليها عند النمو . عند نضوح مادة مهمة من الوسط الزرعي وافراز مواد من قبل الخلايا النامية سيغير ذلك من تعامل الخلايا مع الوسط ، فالخلايا تبدأ بتغير طريقة تفاعلها مع الوسط الزرعي وتحاول ان تتكيف تبعاً للظروف الجديدة لذلك يحتوي هذا الزرع على مجموعة من

الاحياء غير المتجانسة بعد مرورها في اطوار النمو المختلفة والمتتالية وبعد فترة من التطبع الفسلجي للنمو في هذا الوسط تبدأ حجوم الخلايا بالازدياد يتبعه انقسام هذه الخلايا ودخول الزرع في النمو السريع او النمو اللوغاريتمي . يحدث الانقسام في هذا الطور بسرعات متساوية اي ان ازدياد الاعداد يكون بسرعة منتظمة ، فكل خلية تصل الى عمر معين تبدأ عنده بالانقسام الى خليتين . يحدث الانقسام عادة بالانشطار الثنائي البسيط ولكن في الخمائر (ماعدا الانواع شيزوساكروميسس Schizosacohromyces) وانواع قليلة من البكتريا يحصل تكاثرها بواسطة التبرعم . تنفصل الاحياء مباشرة بعد الانقسام او بعد ذلك بقليل ويحدث احيانا ان تبقى الخلايا على شكل سلاسل او مجاميع او حزم ، في هذا الطور تتضاعف كتلة الزرع بسرعة منتظمة فاذا كان تركيز الاحياء الاولى هو x فتكون سرعة النمو اللوغاريتمي (μ) وكالاتي : ـ

$$\mu = \frac{1}{x} \cdot \frac{dx}{dt} = \frac{d\,(\log_e x)}{dt} = \frac{\log_e 2}{td}$$

عندما تكون td (وقت الانقسام Doubling Time) وتساوي الوقت الذي يستغرقه الزرع لمضاعفة كتلته وهي مساوية الى 0.69 مقسومة على μ

$$\log_e 2 = 0.693 = \ln 2 \therefore td = \frac{\text{Log}_2 2}{\mu} = \frac{0.69}{\mu}$$

$$td = \frac{\log 2}{\text{Slop of curve}} = \frac{0.301}{\beta}$$

وعندما تكون ظروف الزرع ثابتة فان قيم μ و td تكون ثابتة ، بينما اذا تغيرت الظروف وخاصة عند تغير التركيز في مادة غذائية مهمة فان هذه القيم تتغير تبع ذلك ، فمثلا اذا نقصت كمية مادة غذائية معينة فان قيمة μ تقل تبعا لذلك . ان اعتماد سرعة النمو على تركيز مادة مغذية اساسية يمكن تمثيله كما يلي :

$$\mu = \mu_{max} \left(\frac{S}{K_s + S} \right)$$

اذا كانت μ_{max} هي السرعة القصوى للنمو عندما تكون كمية المادة المغذية S غير

محددة للنمو ، وان K هي ثابت سرعة التفاعل . ان ثابت سرعة التفاعل K مساوية عدديا لتركيز هذه المادة الغذائية عندما تكون سرعة النمو نصف سرعتها القصوى (عندما تكون السرعة $\frac{\mu_{max}}{2}$) ان قيم K تقاس بالميكروغرام لكل ميلليتر (μg / ml.) عندما تكون المادة المغذية كربوهيدرات وتقاس بالميكروغرام لكل ليتر (μg / L.) عندما تكون المادة حامض اميني . اضافة الى ذلك توجد علاقة بين سرعة النمو μ وسرعة استهلاك المادة المغذية وهذه العلاقة تكون على الشكل التالي : –

$$\frac{dx}{dt} = -y \frac{ds}{dt}$$

y يعرف بمعامل الحاصل (Yield Factor) لفترة محدودة خلال طور النمو اللوغاريتمي

$$y = \frac{\text{وزن الاحياء المجهرية المتولدة}}{\text{وزن المادة الغذائية المستهلكة}}$$

ويمكننا بهذا الحصول على صورة واضحة للنمو الراكد اذا كانت قيم μ_{max} ، و K_s ، و y معلومة . لذلك وفي هذه الحالة المتوازنة يمكن الحصول على كمية ثابتة من الحاصل (Yield) من كمية ثابتة من الاحياء التي تستغل كمية ثابتة من المادة الغذائية الاساسية لكل انقسام ، او بمعنى آخر يمكن حساب كمية المادة الغذائية التي نحتاجها لانتاج خلية واحدة ومن هذه المعلومات نتجت فكرة الزرع المستمر التي سوف تبحث فيما بعد .

في طور النمو اللوغاريتمي تستهلك المواد الغذائية من الوسط الزرعي وتطرح نواتج الفعاليات الحيوية الى الخارج . ان الفترة الزمنية لهذا الطور تختلف من زرع لاخر معتمدة على كمية المواد الغذائية المتوفرة ، وبما ان المواد الغذائية في هذا النوع من الزرع محدودة نوعاما فالانقسامات في الخلايا تتوقف عند هبوط كمية هذه المواد الغذائية الى درجة معينة وقبل نفاذها تماما . لذلك فالوسط الزرعي المكون من مواد غذائية معينة يمكنه اعالة عدد معين من الاحياء مما يجعل الزرع يصل الى اعلى مايمكن من الاعداد بحيث تحتوي على تركيز اعلى ومحدود . يزداد طرح نواتج الفعاليات الحيوية الى الخارج بازدياد كتلة الزرع مما يؤدي الى تغير في طبيعة الوسط الزرعي عندئذ تبدأ الاحياء بالتعود على النمو في هذا المحيط المتغير

الى ان تتغير طبيعة الوسط تغيرا كبيرا بحيث يصبح غير ملائم للنمو وان الاحياء ليست لها القدرة على التعود للنمو في وسط مثل هذا عند ذلك يدخل الوسط في طور ثالث يسمى طور الاستقرار او الثبات الاقصى . ان اعداد الاحياء المتزايدة في هذه الفترة يتعادل مع الاعداد الميتة لذلك يأخذ العدد الحي من الكائنات حداً ثابتاً يستمر لفترة زمنية اخرى ويدخل الزرع احيانا طوراً رابعاً يسمى طور الانحدار حيث تتزايد اعداد الكائنات الميتة وتصبح هي الغالبة على الاعداد الحية .

يحدث عدم تجانس في الطبيعة الفسلجية للاحياء المتواجدة في الزرع الخامل خاصة قابليتها على تكوين البروتين وذلك بعد فترة من النمو تبدأ من طور النمو اللوغاريتمي وتستمر الى طور الانحدار . يمكن ملاحظة ذلك بعملية تقدير كمية الحامض النووي الرايبوزي والذي يعكس بدوره قدرة الكائن الحي على تكوين البروتين .

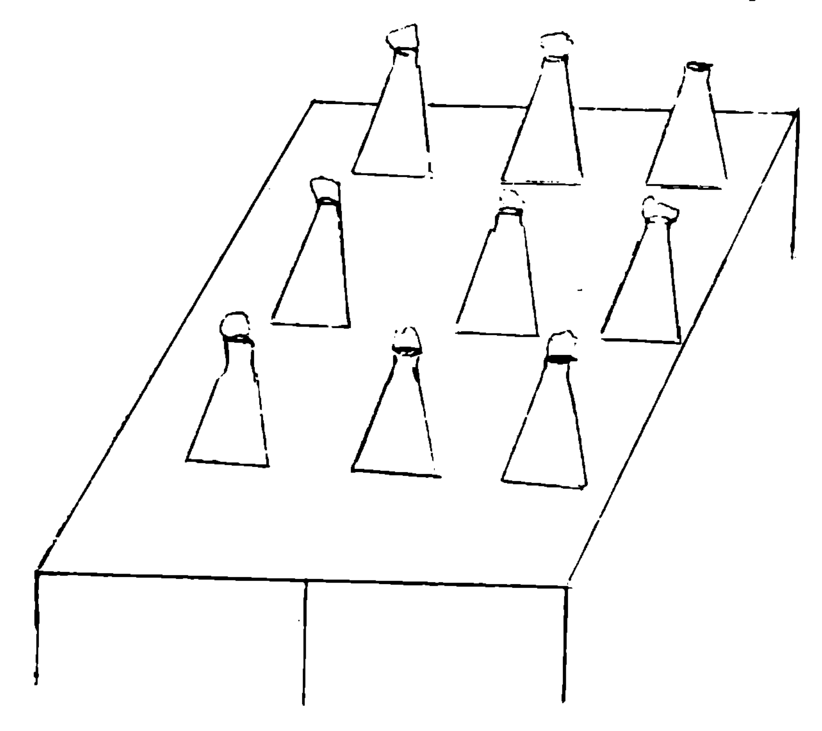
اما على الوسط الزرعي الصلب فتتكاثر الاحياء المجهرية اما على السطح او داخل الوسط بشكل كتلة من النمو تسمى المزرعة . في هذه الظروف وفي هذا الشكل من النمو تتنافس الخلايا على كميات محدودة من الغذاء والاوكسجين المتوفر في هذا المحيط . اما الاحياء التي لها القدرة على الانتشار بواسطة الزحف على السطح مثل المكسوبكتريا (Myxobacteria) فان مزارعها تنتشر على السطح باكمله ولكن الدراسة الفسلجية لهذه المزارع والاسس التي تعتمد عليها هذه الدراسة لم تتحدد بعد . اما عند نمو الاحياء المولدة للهيفات وعلى السطح الصلب فتستطيل الهيفات بجميع الاتجاهات ولكنها تنتشر في اتجاهين فقط مكونة بذلك مزرعة دائرية الشكل وتكبر المسافة بين مركز المزرعة وحافتها بمرور زمن الحضانة ولكن كمية النمو في المزرعة تزداد بصورة تتناسب مع مربع الزمن .

ان المزارع الراكدة او المستقرة لايمكن ان توفر للكائن المجهري وبصورة مستمرة جميع مايحتاجه من مواد غذائية لذلك تصبح غير عملية في الصناعات اي عند وجود رغبة في استمرار عملية النمو وانتاج بعض المنتجات بطريقة التخمر التي تحدثنا عنها لذلك اصبح من الضروري اضافة مواد غذائية بين فترة واخرى وازالة كمية معينة من الوسط المتخمر . ان هذه العملية تدعى عملية النمو شبه المستمر (Semi-Continuous) ان هذه الطريقة ايضاً لايمكن ان تستمر الى مالانهاية حيث يجب ايقافها في وقت معين خوفا من انحلال الزرع . اذا تمت عملية تعويض المواد الغذائية وازالة بعض الوسط الزرعي المتخمر بطريقة جيدة وصحيحة يمكن استمرار العملية دون خوف على الزرع من الانحلال وهذا مايعرف بـــــــالزرع المستمر (Continuous Cultivation) او النمو المستمر (Continuous Growth) ان الاسس التي يعتمد عليها الزرع المستمر هي

تزويد الكائن الجهري وبسرعة مثلى بالمواد الغذائية وبكميات ملائمة بحيث توفر تكاثراً منتظماً لهذا الكائن اي استمرار النمو بالطور اللوغاريتمي بحيث يستمر الانقسام بصورة منتظمة ودائمية . ويحدث احيانا ان ناتج النمو الذي نرغب في الحصول عليه لايكون بكمية مثلى في هذا الطور لذلك لايتماشى هذا الطور مع الانتاج الامثل ، لذا يجب تطوير طريقة التنمية لهذا الغرض وان هذا التطوير يتطلب معرفة الظروف المثلى للنمو بصورة مضبوطة وتوفيرها للخلايا بصورة مستمرة ومنتظمة ومتناسبة مع نمو الكائن الحي . ان هذه العملية تستوجب توفير هذه الظروف المثلى ليس للزرع ككل ولكن للخلية الواحدة ايضاً وهذا يتم بخلط الزرع وتحريكه بصورة مستمرة كي يهيء انتشار الوسط الزرعي المضاف في جميع اجزاء الاناء ، وتستعمل لهذا الغرض خلاطات خاصة مختلفة الاشكال والاحجام تغطس في الوسط الزرعي وتتحرك بالذبذبة او المغنطة او بصورة دائرية بحيث يمكن السيطرة على عدد الدورات وحسب الحاجة ففي هذه العملية يحصل خلط مناسب لطبقات الزرع وبصورة دائرية بحيث يمكن السيطرة على عدد الدورات وحسب الحاجة مما يؤدي الى حركة الوسط حتى ولو كانت لزوجته عالية (تأتي هذه اللزوجة العالية من طبيعة الوسط الزرعي وطبيعة الكائن الجهري فيه) . ان هذا الخلط مهم في العمليات التي تجرى بوجود الاوكسجين وذلك لانها تساعد على نقله من الهواء الى الوسط وبالتالي الى الخلايا . ان سيولة (Rheological Property) الزرع تتغير خلال النمو وبالتالي يتأثر نقل الاوكسجين . تحدث هذه الحالة في الغالب عند تنمية البكتريا الحاوية على الكبسولة او البكتريا المكونة للسلاسل وكذلك في نمو الفطريات بتكوين الغزل الفطري . ان معظم الصناعات التي تستعمل فيها الاحياء الجهرية باعداد كبيرة وخاصة عند التنمية تحت ظروف هوائية تتطلب هز الزرع الذي يتم بواسطة الهواء وذلك بنفخه داخل الزرع بالضغط او بالضغط السالب . ان ضخ التيارات الهوائية تنتشر على شكل فقاعات داخل الزرع يؤدي الى خلط حالات المادة الثلاث الغازية والسائلة والصلبة (الخلايا) الموجودة في الزرع ، وكذلك يسمح بانتشار الهواء وبالتالي الاوكسجين في السائل والمحافظة على نسب معينة منه مذابة في جميع انحاء الزرع كما ويسمح بنقل للمواد الغذائية من الوسط الى الخلايا والى فصل الخلايا عن بعضها البعض وعلى توزيع الحرارة المتولدة .

في الصناعات التي تنمي فيها الخمائر باعداد كبيرة والتي يستعمل هز الزرع فيها بواسطة نفخ الهواء بالضغط او الضغط السالب لايتوفر الخض الكافي لغسل الخلايا المتعلقة بجدار الوعاء مما يؤدي الى الوقوع في اخطاء حساب اعداد الخلايا في الزرع ولذلك فانه من الضروري في هذه الاحوال خرط جدران الوعاء بخراطات بلاستيكية مثبتة على الوعاء من الداخل . وفي بعض الحالات يمكن هز الزرع

بواسطة انبوب داخله هواء وقسم من الزرع رافعاً بذلك قسما من الزرع الى مستوى اعلى من مستوى الوسط داخل الوعاء . ان هذه العملية تخلط قسما من الزرع فقط وبصورة جيدة ولذلك لاتعتبر عملية في الخلط وهناك طرق اخرى لهز الزرع وذلك بتدوير الوعاء الحاوي على الزرع بكامله وذلك بالتدوير المنعكس او بالدوران الكامل وغيرها . ان تدوير الاواني بصورة دائرية يهز الوسط الزرعي دون تماسه مع الغطاء القطني بنشره على شكل طبقة رقيقة تتم تهويتها خلال سطح الوسط وعبر الغطاء القطني كما في شكل (٢) . ان جميع انواع التدوير هذه غير محبذة في الزرع المستمر لصعوبة ضبط الحجم وصعوبة غلق منافذ الوعاء باحكام لغرض الهز . تكون عملية الهز احياناً بتدوير الوعاء حول محوره الطولي العمودي او المائل مع ضبط عدد الدورات بواسطة منظم في المحرك ،واثناء عملية التدوير يطلى الوعاء من الداخل بطبقة رقيقة من الوسط الزرعي مما ينتج عنه تهوية جيدة وخلط مستمر . ويمكن ان يجهز الوعاء من الداخل بدفات طولية متحركة لزيادة عملية الخلط والتهوية . ان عملية الهز بالتدوير السريع يوصي بها عندما يتطلب النمو كميات وافية نسبيا من الاوكسجين وعندما يتعذر اضافة مادة مزيلة للرغوة اثناء العملية .



الشكل (٢) يبين طريقة هز الزرع بالتدوير

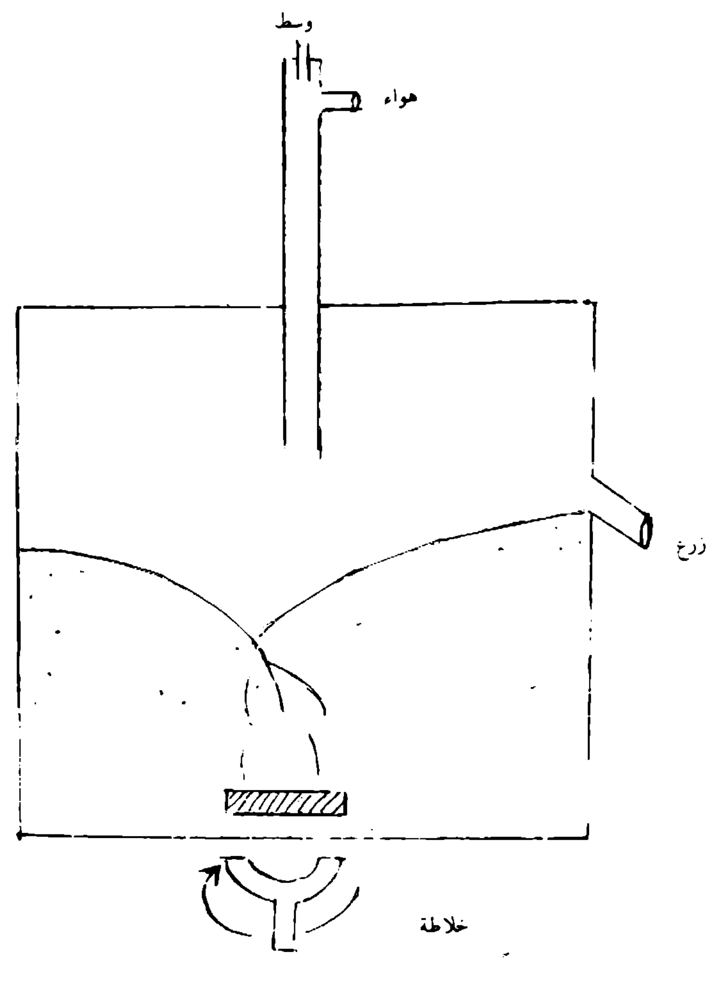
ان هذه الحالة بالطبع تتطلب معرفة جيدة بطبيعة الزرع والتنسيق بين النمو واضافة المواد الغذائية والخلط الجيد للوسط المضاف حديثاً مع الخلايا النامية . عند اضافة وسط زرعي جديد اثناء طور النمو اللوغاريتمي وبسرعة كافية للحفاظ على كثافة ثابتة مقدارها اقل من الكثافة القصوى (μ_{max}) للزرع عندئذ يمكن للزرع ان يستمر الى مالانهاية على عكس الزرع الراكد . من الواضح ان سرعة اضافة الوسط الزرعي الجديد في الزرع المستمر يجب ان تكون لوغاريتمية ايضاً وذلك لازدياد كمية النمو لوغاريتميا مما يؤدي الى الحاجة لزيادة حجم الاناء الذي تجري فيه عملية التنمية وهذا غير عملي طبعاً لذلك يتوجب خفض اعداد الاحياء بطريقة تتماشى مع اضافة المواد الغذائية . ان الحفاظ على حجم ثابت للزرع وبكثافة ثابتة للنمو يشكل الاساس التي يعتمد عليه نوع معين من الاجهزة يستعمل للزرع المستمر يسمى منظم العتمة (Turbidostat) . قد يخطر ببال البعض ان ازالة كمية من الزرع قد تؤدي الى ازالة كميات من الوسط الزرعي المضاف دون استغلاله من قبل الاحياء مما يؤدي الى فقدان المواد الغذائية . ان هذا لايحصل عادة ، حيث ان الوسط الزرعي يستغل حال اضافته ولا توجد كميات كبيرة منه غير مستغلة بالمعنى الصحيح . وهناك نوع اخر من الاجهزة يستعمل للزرع المستمر ايضاً يسمى المنظم الكيميائي (Chemostat) وهو يشبه منظم العتمة غير ان كثافة الزرع يمكن السيطرة عليها مباشرة ولكن التركيب الزرعي يكون بالشكل التالي : —

يعمل الوسط بجميع مكوناته وبتراكيز اعلى مما يحتاجه الكائن المجهري ماعدا مادة واحدة يعتمد عليها الكائن الحي ، وتضاف هذه المادة بتركيز محدود وكاف فقط لاحداث نمو محدود الكمية . ويمكن تنظيم اضافات الوسط الزرعي بحيث يضاف الوسط الجديد الى الزرع اثناء انقسام الخلايا لكي نحصل على زرع تكون معظم خلاياه في مرحلة معينة من النمو المنظم المستمر شكل (٣)

نظرية الزرع المستمر : في المنظم الكيميائي تكون سرعة اضافة الوسط الزرعي الجديد الى الزرع هي العامل الاهم المسيطر على نمو الكائن المجهري تحت الدراسة . ان نسبة سرعة اضافة الوسط الزرعي الجديد الى الزرع (f) الى حجم الزرع (v) تحت الدراسة تساوي سرعة (D)

$$D = \frac{f}{v}$$

ان سرعة التخفيف D تساوي عدد الحجوم من الوسط والتي تمر خلال وعاء الزرع في فترة ساعة واحدة . وان مقلوب هذه السرعة ($\frac{1}{D}$) يعطي معدل مدة البقاء والتي تساوي معدل الوقت الذي يقضيه الكائن في وعاء الزرع ، وفي



الشكل (٣)
المنظم الكيميائي

وعاء المنظم الكيميائي تنمو الكائنات المجهرية ولكنها ايضا تغسل وتخرج من الوعاء . ان التغير الكلي الحاصل في تركيز الاحياء (X) من الممكن ان يحسب بمرور الوقت من نسبة سرعات النمو والغسل .

الزيادة = النمو - المطروح خارجاً Increase = Growth- Washout

$$\frac{dx}{dt} = \mu x - DX$$

$$\frac{dx}{dt} = x(\mu - D) \qquad .... (1)$$

علماً بأن (t) ترمز الى الوقت و (D) الى التخفيف و (μ) تعني سرعة النمو من هذه المعادلة اذا كانت μ اكبر من D فأن قيمة $\frac{dx}{dt}$ تكون موجبة وان تركيز الاحياء في الوعاء يزداد بمرور الوقت . وعلى العكس اذا كانت μ اقل من D فالنتيجة تكون سالبة وان تركيز الخلايا في الوعاء يقل بمرور الزمن وبالنتيجة يغسل الزرع باكمله من الوعاء وعندما تكون μ. مساوية لـ D تكون قيمة $\frac{dx}{dt}$ = ضفر ففي هذه الحالة يكون تركيز الاحياء في المزرع ثابتا بمرور الزمن ويقال عن الزرع انه في حالة الثبات او الانتظام (Steady State) . يمكن تنظيم سرعة النمو للاحياء المجهرية في اي منظم كيميائي ضمن حدود معينة ولأية قيمة مرغوب فيها ولكن سرعة النمو الخاصة باي كائن مجهري معين لايمكن ان تتعدى μ_{max} سرعة النمو القصوي . ان حالة الانتظام يمكن الحصول عليها فقط عندما تكون سرعة التخفيف اقل من قيمة حرجة تدعي Dc^- والتي تساوي تقريبا السرعة القصوي (μ_{max}) للنمو . فاذا نظمت سرعة التخفيف لقيمة اعلى من Dc^- فأن الزرع سيغسل من الجهاز الى الخارج . في الزرع المستمر يعتقد بوجود سرعة نمو دنيا 0.05 اي أنها من سرعة النمو القصوي μ_{max} .

للحصول على قياسات كمية لنمو الاحياء المجهرية وتصرفها في الزرع المستمر يجب الاخذ بنظر الاعتبار تأثير سرعة التخفيف على تركيز المادة المعتمد للنمو (S) وتركيز الخلايا (x) في الزرع . ان المادة المغذية التي يعتمد عليها النمو s تضاف الى الوعاء بتركيز (S_R) ، وبعد اضافتها للزرع تبدأ الاحياء باستغلالها للنمو وتخرج من الوعاء اثناء عملية النمو بتركيز (s) لذلك فأن التغير الكلي في تركيز هذه المادة نتيجة لعبورها خلال الزرع هو :

التغير = الكمية الداخلة = الكمية الخارجة ـ الكمية المستهلكة

$$\frac{ds}{dt} = DS_R - D_s - \text{Growth / Yield}$$
$$= DS_R - D_s - M_x / Y$$

وبالرجوع للمعادلة التي حددنا في الزرع الراكد

$$M = M_{max} \left(\frac{S}{K_s + S} \right)$$

وبالاستعاضة عن M تكون المعادلة التالية

$$\frac{ds}{dt} = D (S_R - S) - \frac{M_{max}\, x}{y} \left(\frac{S}{K_s + S} \right) \ldots\ldots (٣)$$

كذلك بالاستعاضة عن M في المعادلة $\frac{dx}{dt} = x\,(M - D)$ تتكون المعادلة التالية

$$\frac{dx}{dt} = x \left[M_{max} \left(\frac{S}{K_s + S} \right) - D \right] \ldots\ldots (٤)$$

يمكن الاستنتاج من المعادلتين الاخيرتين وعندما تكون الكيموستات في حالة ثبات (عندما تكون قيم S_R و D ثابتة وان D اقل من Dc^-) توجد قيم فريدة لكل من تركيز الاحياء في الزرع وتركيز المادة المغذية والمعينة . هذه القيم يرمز لها $\bar{s}$, $\bar{x}$ وفي حالة التعادل

$$M = D = M_{max} (\frac{S^{\cdot}}{\cdot})$$

وبحل معادلة ٣ الى الصفر Equating to Zero وحل المعادلة بالنسبة الى $\bar{x}$ تكون لدينا .

$$x^- = y (S_R - \bar{S}) \ldots\ldots (٥)$$

ونعيد نفس العملية على المعادلة (٤) فنحصل على مايلي : ـ

$$S = K_s (\frac{D-}{\mu_{max} - D}) \ldots\ldots (٦)$$

وبتعويض $\bar{S}$ (معادلة ٦) في معادلة (٥) ينتج لدينا

$$\bar{x} = y [S_R - K_s (\frac{D^-}{\mu_{max} - D})]$$

يعتمد حاصل المزروع (Yield) على سرعة النمو للزرع . فعندما تتحدد سرعة نمو الزرع تبع وجود او انعدام مصدر كربوني معين في المنظم الكيمياوي تتغير قيمة او كمية الحاصل ايضا . ان المصدر الكربوني هذا يستخدم ليس فقط لبناء وحدات الخلية وتراكيبها بل كمصدر للطاقة ايضا . لذلك فأن نسبة كمية المصدر الكربوني المحترق اثناء عملية التنفس الى كمية الكربون المستخدم للبناء تعتمد على سرعة تكوين الخلايا الجديدة او بمعنى آخر على سرعة النمو مما يؤدي الى تغير كمية الحاصل وخاصة عند سرعات نمو واطئة .

تطبيقات الزرع المستمر

توفير حالات النمو الثابت Steady State وذلك بوجود تركيز ثابت للمادة الغذائية التي يعتمد عليها النمو لذلك الكائن المجهري تحت الدراسة .
يستفاد من هذه الحالة للنمو الثابت في دراسة عمل الانزيمات ، والدراسات الوراثية للاحياء ، والدراسات الفسلجية وغيرها .

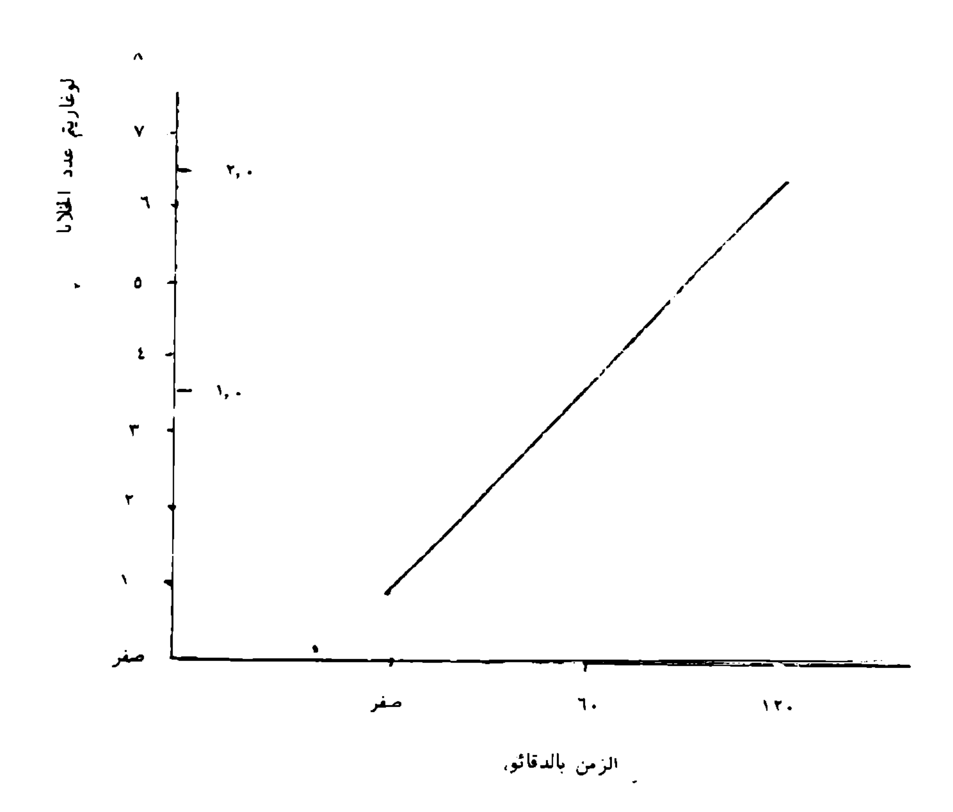
الفصل الثالث
النمو

حركية النمو Growth Kinetics

عند زرع الاحياء المجهرية وحيدة الخلية في وسط زرعي ملائم وتحت ظروف فيزيائية مناسبة تبدأ الخلايا بالتكاثر . وفي معظم انواع البكتريا تتكاثر الخلايا بالانشطار الثنائي البسيط فتصبح خليتين بعد فترة من الزمن . وبما ان الانشطار الثنائي البسيط هو الغالب والاسهل في الحسابات لذا سنأخذه كمثال لحساب نمو المزارع .

وعلى فرض اننا نبدأ بزرع عدد الخلايا فيه هو خلية واحدة وان زمن الجيل (الزمن المستغرق بين انقسامين) هو خمسة عشرة دقيقة فبعد هذه الفترة من الزمن او بعد جيل واحد يصبح عدد الخلايا اثنتين وبعد ثلاثين دقيقة اي بعد جيلين يصبح عدد الخلايا $2 \times 2 = 4$ وبعد خمسة واربعون دقيقة يصبح العدد $2 \times 4 = 8$ وهكذا . ولو افترضنا ان عدد الاجيال التي يمر بها الزرع هو (n) بعد فترة زمنية تساوي (t) عندئذ سيكون عدد الخلايا بعد تلك الفترات مساو 1×2^n ولنفرض الآن اننا بدأن بزرع خلاياه = N_0 بدلا من خلية واحد فبعد عدد من الاجيال مقداره (n) يصبح العدد = N_1 ويساوي $N_0 \times 2^n$ ، كما وان الاسس أو القوة التي يرفع اليها الرقم 2 لأي عدد كان هو لوغاريتم العدد للاساس 2 (Log_2) . لو اخذنا قياسات لوغاريتمات اعداد الخلايا للاساس 2 ورسمناها كدالة للوقت نحصل على خط مستقيم اذا كان الزرع في طور النمو اللوغاريتمي كما في شكل (٤) . ولكن لو رسمنا لوغاريتم الاعداد ولكن للاساس 10 بدلا من الاساس 2 نجد ان الشكل الجديد يكون خطا مستقيما ايضا ومطابقا للمستقيم المرسوم في الشكل (٤) عدا اختلاف وحدات القياس على المحور الصادي . ان هذا الشكل يسمى نصف لوغاريتمي (Semi Logarithmic Plot) وذلك لأنه يوضح العلاقة بين لوغاريتمات (المحور الصادي في هذه الحالة) وارقام حسابية (المحور السيني) ولقياس النمو يفضل استعمال لوغاريتم العدد الاساس ٢ (لو٢) على لو١٠ (log_{10}) وذلك لأن كل وحدة على المحور الصادي تمثل زيادة في الاعداد تساوي الضعف وبذلك يمكن حساب زمن الجيل من المنحني نفسه ، اما اذا اخذ Log_{10} العدد فيمكن تحويله للاساس 2 كما فى المعادلة التالية

$$Log_2 \quad n = \frac{Log_{10} n}{Log_{10} 2} = \frac{Log_{10} n}{0.301}$$

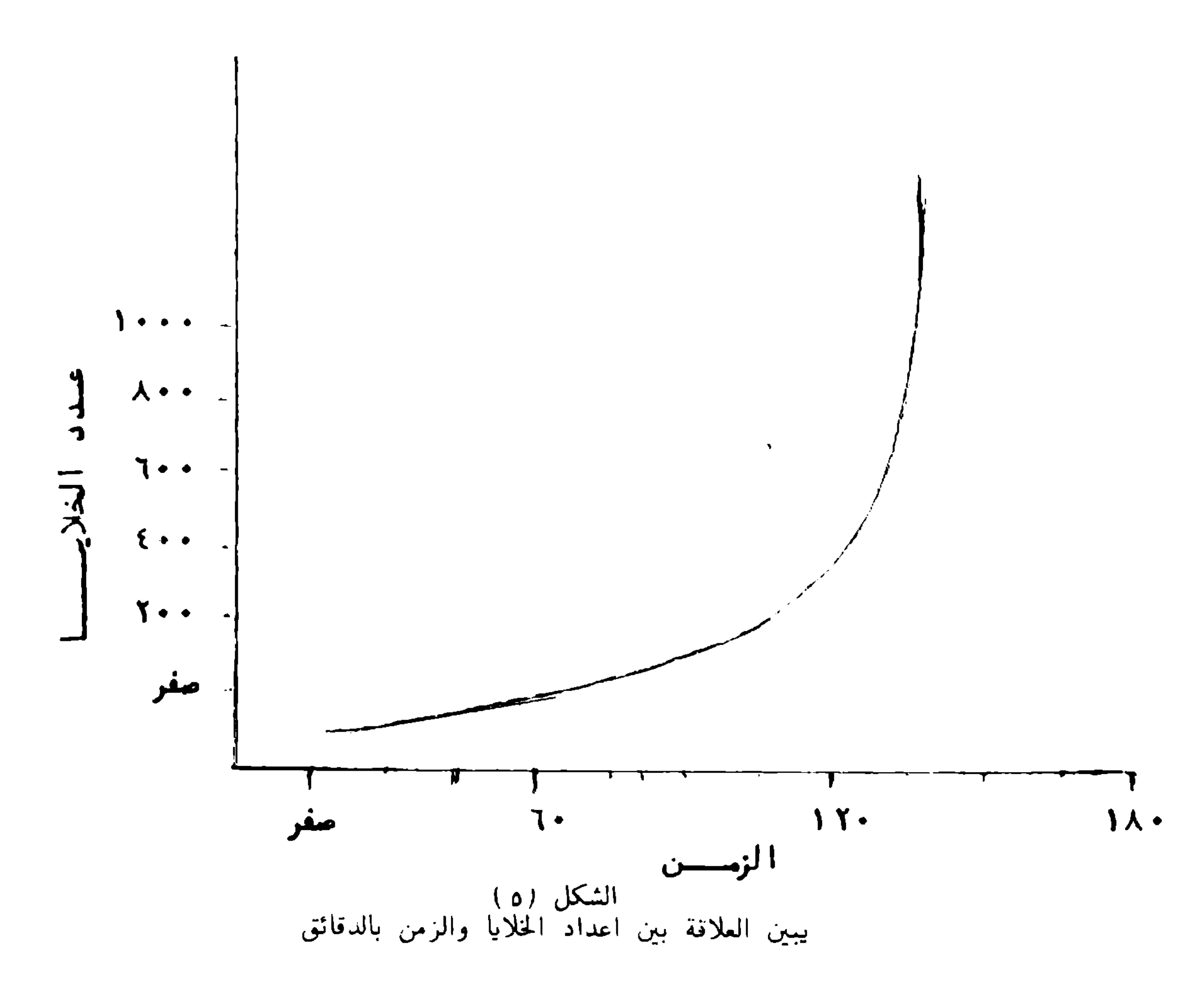


الشكل (٤)
يبين العلاقة بين لوغاريتم عدد الخلايا في الزرع مع الزمن .

ان رسم منحني النمو بين Log العدد او Log الكتلة وبين الزمن يفضل على رسم المنحني باعداد الخلايا او الكتلة نفسها (دون اخذ لوغاريتمها) وذلك للاسباب التالية : ـ

١ ـ عدم وضوح مايحصل من انقسامات في الزرع وفي الفترات الاولى من النمو الا عندما تصبح الاعداد كبيرة كما في الشكل (٥) .

٢ ـ يمكن حساب سرعة النمو (Growth Rate) للزرع وذلك بحساب انحدار المنحني في الشكل الاول . ان سرعة النمو في الطور اللوغاريتمي تكون ثابتة وان شدة انحدارها لها علاقة بالنمو طبعا فكلما كان الانحدار شديدا كان



الشكل (٥)
يبين العلاقة بين اعداد الخلايا والزمن بالدقائق

النمو اسرع والعكس صحيح ايضا . ان شدة الانحدار ليست لها علاقة بحجم الزرع ومهما كانت اعداد الخلايا التي بدئنا بها . فمثلا يمكن ان نبدأ بمليون او مليونين اوْ ثلاثة ملايين خلية وعندما تكون سرعة نمو هذه المزارع الثلاث واحدة فأن رسم منحني النمو بطريقة نصف لوغاريتمية فسنحصل على ثلاثة مستقيمات متوازية

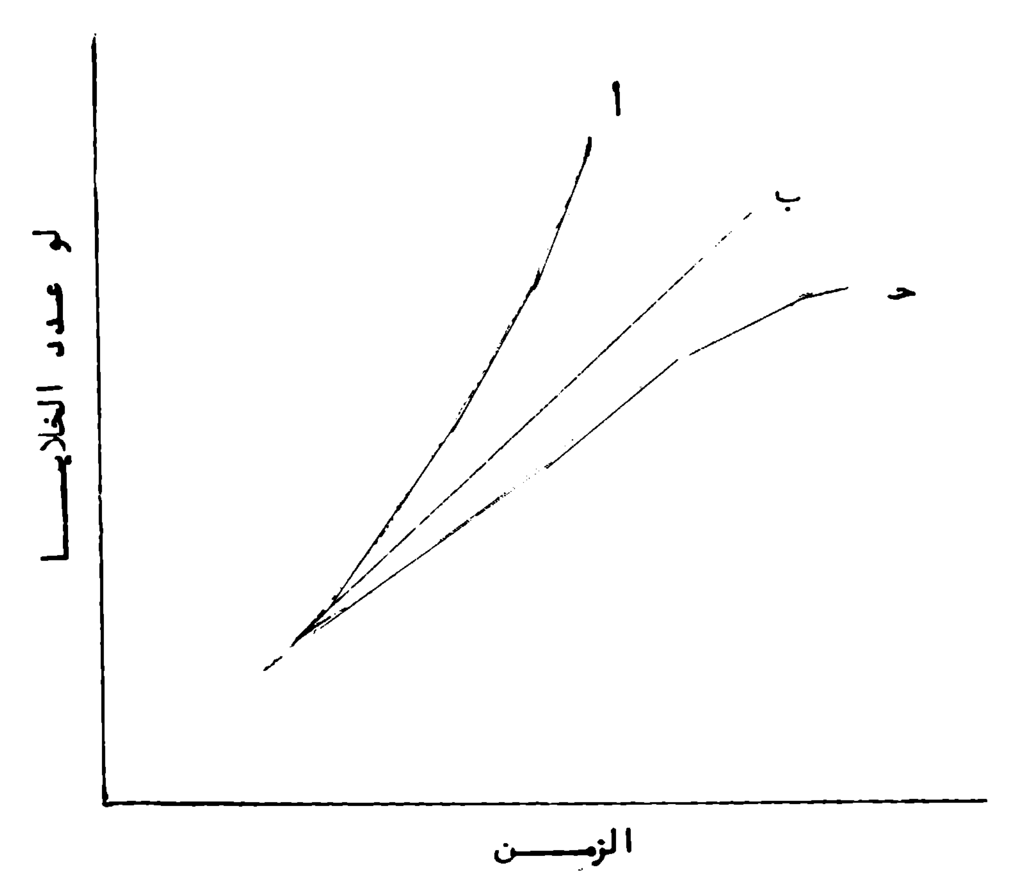
٣ ـ يمكن معرفة التغاير الحاصل في سرعة نمو الزرع لعدة مزارع كما في شكل (٦) حيث ان الزرع (أ) له سرعة متغيرة ومتزايدة والزرع (ب) له سرعة ثابتة اما الزرع (جـ) فسرعته متغيرة ايضا ولكنها متناقصة .

حساب ثابت السرعة

اذا كانت K هي ثابت سرعة النمو اللوغاريتمي والتي تعرف بعدد المضاعفات (Doublings) الحاصلة في زرع معين لكل وحدة زمنية (ساعة) او $\frac{n}{t}$ وان حجم الزرع في بداية الفترة الزمنية (t_1) هو N_0 وحجمه في نهاية الفترة الزمنية (t_2) هو N_t فيمكن حساب عدد الاجيال في ذلك الزرع من العلاقة التالية : ـ $N_t = 2^{kt} N_0$ ولو اخذنا لوغاريتم هذه العلاقة عندئذ تصبح المعادلة $Log_2 \frac{N_t}{N_0} = K_t$ يمكن حساب k من هذه العلاقة كما يلي

ويمكن ايضا من هذه العلاقة $K = \frac{Log_2 N_t - Log_2 N_0}{t_2 - t_1}$ حساب عدد المرات التي يتضاعف بها عدد الخلايا في الساعة الواحدة كذلك ان اردنا حساب زمن الجيل (G) اي الوقت الذي يستغرقه الزرع ليضاعف عدده فيمكن ايجاده من العلاقة التالية : ـ $G = \frac{t}{n}$ حيث ان (t) هي الفترة الزمنية و (n) هي عدد الاجيال . ان العلاقة $K = \frac{Log_2 N_t - Log_2 N_0}{t}$ صحيحة عندما تكون سرعة النمو ثابتة اما اذا تذبذبت هذه السرعة كما يحصل في المزارع المستمرة فلا يصح استعمالها عندئذ ، لذا يجب حسابها بطريقة اخرى وكما يلي : ـ

يستعمل في هذه الطريقة ثابت سرعة النمو في تلك اللحظة (Instantaneous) ويرمز له بـ μ بدل K ويمكن استخراجه كما يلي : ان التغير الحاصل في اعداد الخلايا (dN) خلال زيادة في الزمن مقدارها (dt) يتناسب طرديا مع عدد الخلايا N ومع ثابت السرعة للنمو μ فالعلاقة تكون : $\frac{dN}{dt} = \mu N$ ان تكامل هذه المعادلة بين الحدود N_t ، و N_0 يعطي المعادلة التالية : ـ



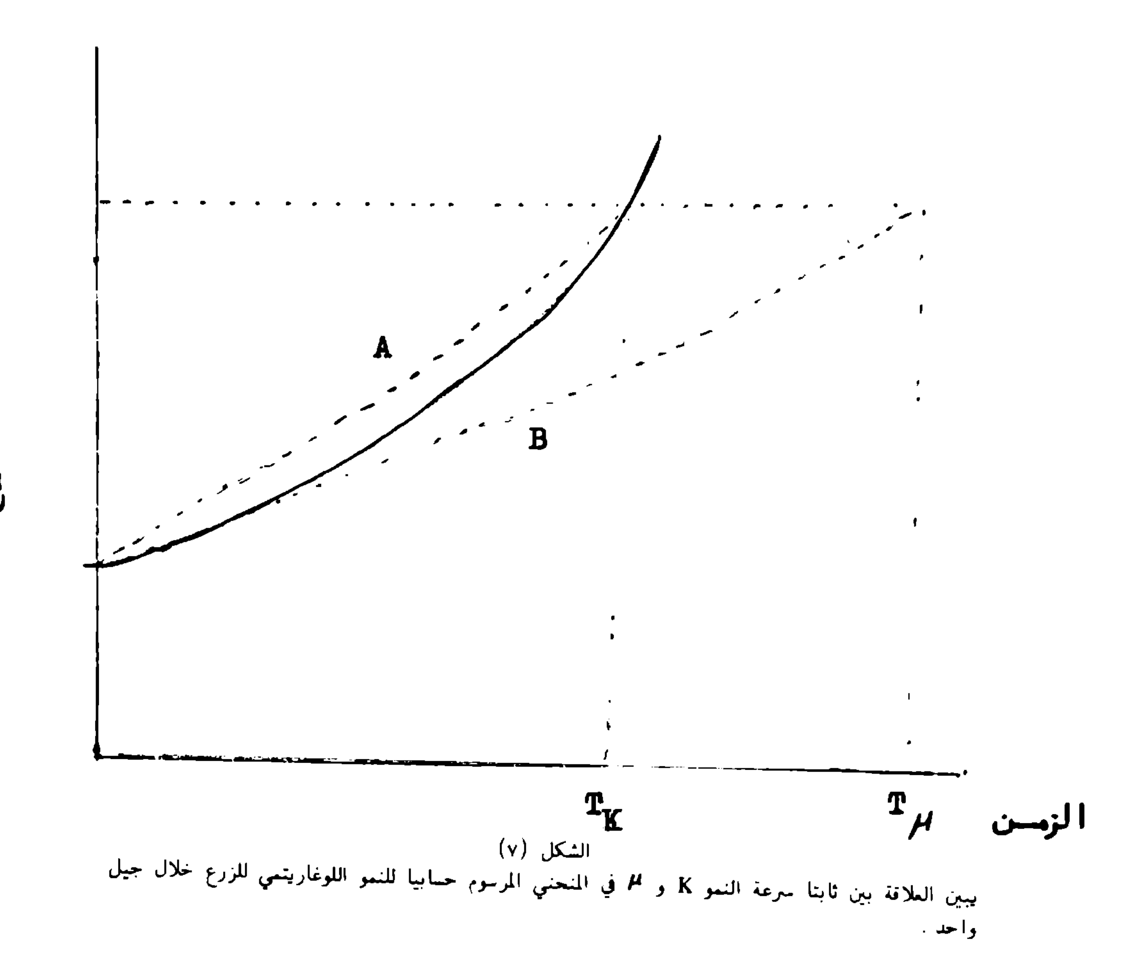
الشكل (٦)
يبين التغاير في سرعة نمو ثلاث مزارع أ ، ب ،حـ .

$N_t = e^{\mu t} N_o$ ولو اخذنا لوغاريتم هذه الاعداد تصبح المعادلة :

$$\ln \frac{N_t}{N_o} = \mu t$$

ان μ او ثابت سرعة النمو في تلك اللحظة يوضح الزيادة النسبية في الزرع لكل وحدة زمنية ، وان معكوس هذا الثابت (زمن الجيل في ذلك الوقت) يمثل الوقت الذي يحتاجه الزرع لكي يتضاعف اذا بقيت السرعة التي كانت في بداية الزمن (الزمن صفر) ثابتة .

يمكن ايجاد العلاقة بين μ و K بواسطة حساب انحدارات المنحنيات المرسومة حسابيا للنمو اللوغاريتمي خلال جيل واحد كما في شكل (٧) وان العلاقة العددية بين هذين الثابتين يمكن حسابها كما يلي : ــ



الشكل (٧)

يبين العلاقة بين ثابتا سرعة النمو K و μ في المنحني المرسوم حسابيا للنمو اللوغاريتمي للزرع خلال جيل واحد .

$$N_t = 2^{Kt} N_o$$
$$N_t = e^{\mu t} N_o$$

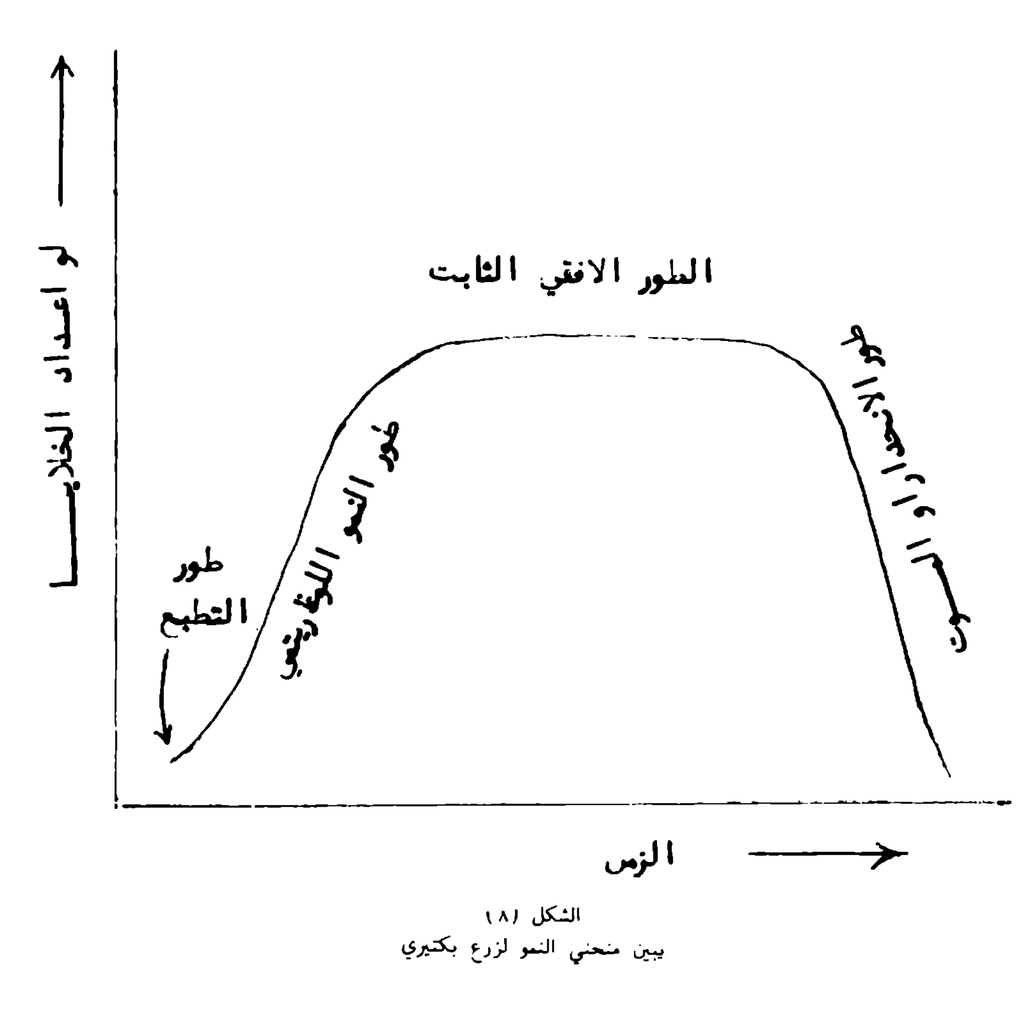
$$2^{Kt} N_o = e^{\mu t} N_o$$
$$2^{Kt} = e^{\mu t}$$
$$\mu = K (\ln 2) = K \times 0.69$$

وان زمن الجيل في تلك اللحظة $\frac{1}{\mu}$ يساوي K $\frac{1}{0.69}$ او 1.45 مرة لمعدل الزمن للجيل ، وان (e) هي النقطة التي يكون فيها اللوغاريتم الطبيعي الى X يساوي واحد او بمعني اخر ($\ln x = 1$ في النقطة e) وقيمتها تساوي 2.71828 ، علما ان (e) القاعدة الطبيعية Natural Base .

اطوار النمو

ان الاحياء المجهرية تنمو بطريقتين اما بازدياد العدد او بالكتلة او بكلتيهما ، لكن هذا النمو لايمكن ان يستمر الى مالانهاية بسبب تحديد الغذاء المتوفر او لتراكم المواد المطروحة نتيجة للفعاليات الحيوية والتي تكون سامة ومثبطة للنمو . يحدث هذا في البيئة بصورة طبيعية واذا لم يحدث هذا فأن الاحياء المجهرية قد تطغي على الكرة الارضية نتيجة لنموها اللوغاريتمي وقلة زمن جيلها بعد ان يتوقف نمو هذه الاحياء يبدأ عددها بالتناقص ، فاذا كان الزرع راكدا اي انه لايوجد اية اضافة لمواد غذائية جديدة او ازالة المواد السامة عندئذ يمر باطوار مختلفة تعرف باطوار النمو . ان هذه الاطوار لاتنطبق على جميع الاحياء المجهرية وتختلف باختلاف طريقة التكاثر ، فالبكتريا تتكاثر بالانشطار الثنائي البسيط والخمائر بالتبرعم لذلك يختلف النظامان فيما بينهما . ولكن البكتريا والخمائر تمران بنفس الاطوار رغم اختلافها بكمية الزرع الناتج والفترات الزمنية للاطوار المختلفة . ان اطوار النمو في البكتريا درست بصورة اوسع من بقية الاحياء المجهرية الاخرى لذلك ستعتبر مثالا لهذه الدراسة .

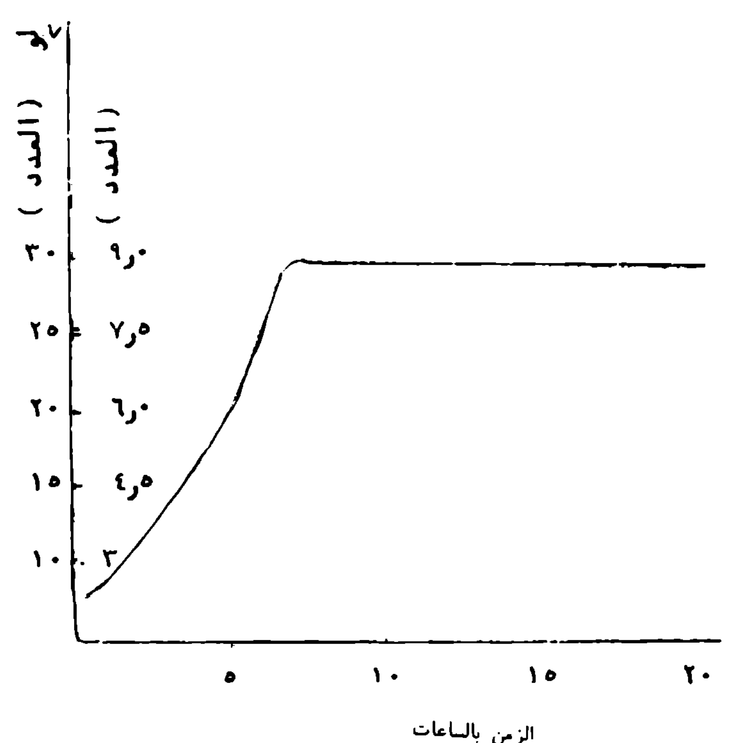
من الممكن دراسة طبيعة نمو الزرع البكتيري بصورة جيدة وواضحة عندما تفصل مراحل النمو المختلفة والتي تتغير سرعة النمو فيها حسب عمر الزرع . وعندما ترسم هذه المراحل على شكل منحي يعتمد على كتلة الزرع وعدد الخلايا خلال فترة النمو ينتج منحني النمو الموضح في الشكل (٨) . ان شكل المنحي يبقى ثابتا اذا رسمنا المنحني معتمدين على كتلة الزرع او على حساب عدد الخلايا خلال فترة النمو . ان هناك اختلافاً واحداً في هذين العاملين وهو ان الزيادة في كتلة الزرع لفترة زمنية محددة (ساعة مثلا) والتي تعرف بسرعة النمو لاتنطبق مع الزيادة في الاعداد لنفس الفترة والتي تعرف بسرعة التكاثر بالاعداد وذلك خلال



الشكل (١٨)
يبين منحني النمو لزرع بكتيري

الطور الأول . يأخذ الزرع اربعة اطوار رئيسة : (١) طور التطبع والتكيف او التأخر (Lag Phase) والذي تكون سرعة النمو فيه صفرا (٢) طور النمو اللوغاريتمي او الاسى Phase Logarithmic الذي تكون سرعة النمو فيه ثابتة وباقصاها (٣) طور الثبات الاقصى Maximum Stationary Phase وتكون سرعة النمو فيه صفر (٤) طور الموت او الهبوط Declining Phase والذي تكون سرعة النمو فيه ذات قيمة سالبة ان هذه الاطوار الاربعة الرئيسة تتلاقى مع بعضها البعض بمناطق انتقالية حيث تتغير فيها سرعة النمو باستمرار .

عند رسم منحني النمو يجب تحديد العامل قيد الدراسة مثل الكتلة او العدد ونظرا لكثرة الاعداد التي تنتج عن النمو يستعاض عنها بلوغاريتم العدد للاساس عشرة . ومن الممكن الحصول على معلومات افضل لو استعمل لوغاريتم العدد للاساس اثنان وذلك لان الخلية الواحدة تنقسم الى اثنتين وان كل وحدة على المحور الصادي تعني مضاعفة العدد ويمكن من نفس المنحني ان نستخرج زمن الجيل (الفترة الزمنية بين انقسامين) وعدد الاجيال لكل طور من اطوار النمو كما في شكل (٩) .



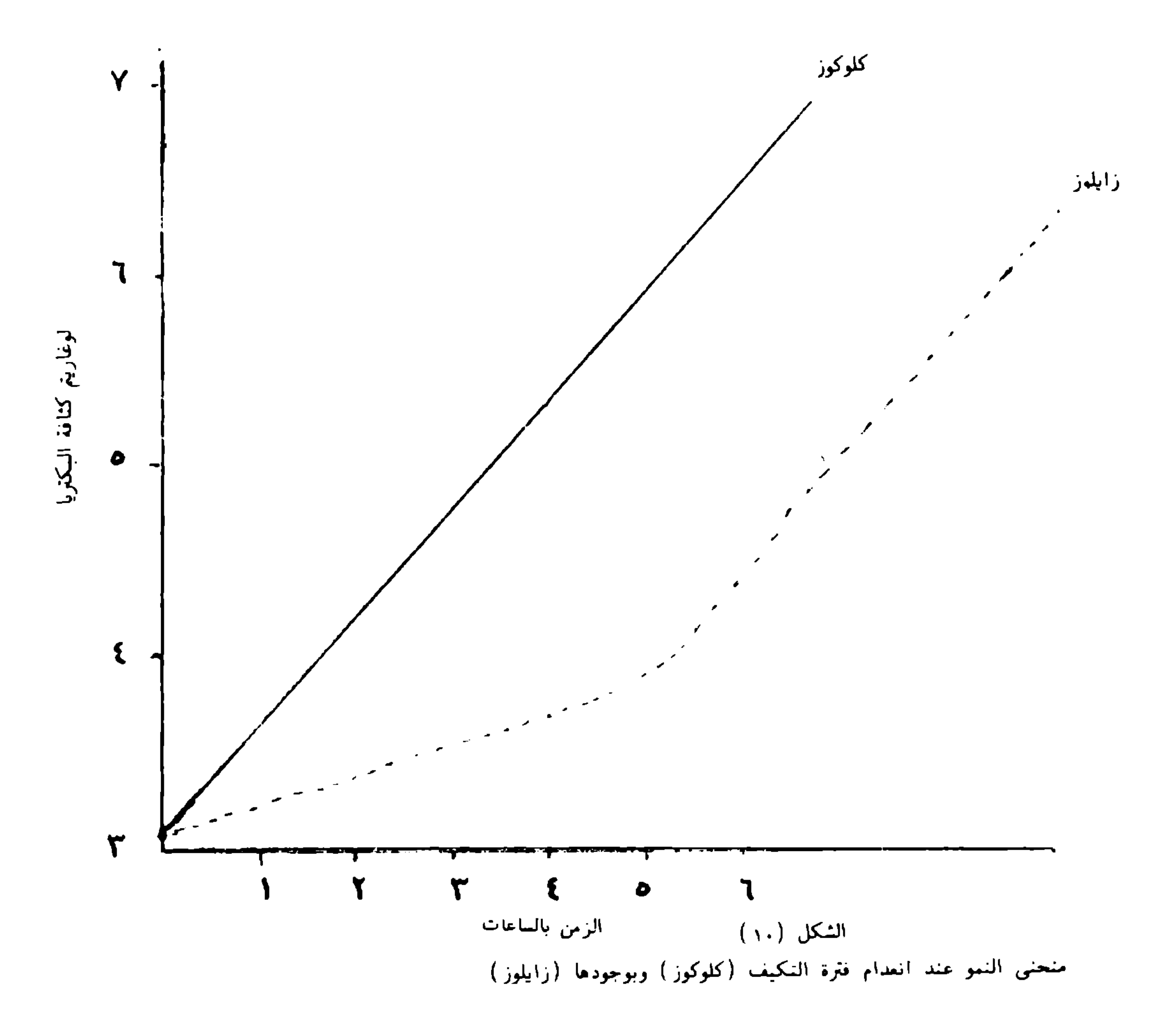
الشكل (٩) العلاقة بين اعداد البكتريا وزمن النمو والتي منها يمكن حساب زمن الجيل

(١) الطور الأول : طور التطبع والتكيف او طور التأخر **Lag Phase**

عند نقل لقاح الزرع الى وسط جديد فأن الخلايا لاتبدأ بالانقسام مباشرة وبالسرعة التي يمكنها ان تنقسم فيها عندما تتوفر لها مواد غذائية اكثر من حاجتها بكثير وقد يحصل احيانا ان تنقص اعداد الاحياء في هذا اللقاح بعد النقل . ان الوقت الذي يستغرقة هذا التأخير في الانقسام يختلف من حالة الى اخرى وفي بعض الاحيان لايحدث ، فهو يحدث في اللقاحات المأخوذة من زرع قديم او عندما **ينقل الزرع من وسط لاخر يختلف في مكوناته الغذائية مثل حالة نقل بكتريا كانت** تنمو في وسط حاوي على سكر الارابنوز الى وسط حاوي على سكر الكلوكوز أو الزايلوز فعند نقلها الى الوسط الحاوي على الكلوكوز فأنها تستمر بالانقسام لانها تملك انزيمات خاصة بذلك ولانها كانت قد كونت تلك الانزيمات عندما كانت تنمو في وسط الارابنوز اما عندما تنقل الى الوسط الحاوي على الزايلوز فأنها تمر بفترة التكيف او التأخر لانها تحتاج الى وقت لتبني انزيمات تحتاجها لحرق هذا السكر كما هو مبين في شكل (١٠)

ان هذه الانزيمات التي تتكون تحت تأثير المادة التي يعمل عليها الانزيم بالانزيمات المتكيفة (Adaptive Enzymes) . وقد يحصل احياناً وطوال زمن هذا الطور عند نقل الزرع من وسط الى وسط اخر مختلف عنه في مكوناته الغذائية لايعزي الى تكوين الانزيمات المتكيفة كما ذكر آنفاً ولكن يحدث نتيجة لاختيار طفرة في الزرع . ان تفسير هذه الظاهرة هو ان معظم خلايا اللقاح لاتتمكن من استغلال المواد الغذائية في الوسط الجديد ولكن نسبة قليلة منها تستطيع ذلك . ان هذه النسبة القليلة هي الاحياء التي فيها طفرة وتحتاج الى زمن اطول لكي تتكاثر هذه الاعداد وتصبح هي الغالبة . ان التاخر في زمن هذا الطور هو ظاهري وليس حقيقي في مثل هذه الحالة . يمكن تميز الطور الظاهري عن الحقيقي عندما تكون فترته الزمنية اطول من الزمن الذي تحتاجه الخلية لعدة اجيال وهي في طور النمو اللوغاريتمي . ان طور التطبع لايحدث في حالة نقل اللقاح من زرع كان في طور النمو اللوغاريتمي ووضعه في وسط جديد له نفس المكونات الغذائية للوسط الذي كان فيه ، اما اذا حدث هذا الطور فان الوقت الذي تستغرقه الاحياء في التكيف لمحيطها الجديد هو مدة هذا الطور . فهو طويل عندما يكون زمن الجيل طويلا ويقصر عندما تعكس الحالة . ان طول او قصر زمن هذا الطور لايؤثر على اطوار النمو الاخرى .

اذا اخذنا اللقاح من زرع وهو في طور الثبات او الاستقرار ونقلناه الى وسط جديد فان طور التأخر الحاصل يمكن تفسيره بالوضع الكيمياوي للخلايا حيث ان الخلايا تملك عادة نسبة اقل من الرايبوسومات ، وبما ان كمية البروتين المتكونة



الشكل (١٠)
منحنى النمو عند انعدام فترة التكيف (كلوكوز) وبوجودها (زايلوز)

تعتمد على كمية الرايبوسومات يحصل التاخر في تكوين البروتين وبالتالي يحصل تأخر بالنمو كما وان خلايا اللقاح هذه صغيرة الحجم ويجب عليها ان تكبر في حجمها قبل ان تنقسم ان الزيادة في حجم الخلايا تؤدي الى زيادة في استهلاك الاوكسجين او استهلاك ثاني اوكسيد الكاربون والامونيا (مصدر النيتروجين) اذا قيست هذه العوامل بالنسبة لفعالية الخلية الواحدة ، وبمعنى اخر ان الخلايا لاتزداد فقط بالحجم ولكنها تزيد من سرعة تنفسها وعملية بناء تراكيبها لكي تصبح مهيئة للانقسام ، فاذا قسنا زمن هذا الطور بالنسبة الى كتلة الزرع ان فعالية الانزيمات مقاسة بالنسبة الى وحدة الزمن الوزن الجاف او الى كمية النتروجين هي نفسها خلال طور التطبع او التكيف وطور النمو اللوغاريتمي ، ان هذه الحالة تؤكد ماسبق ذكره في ان الفعالية الحيوية لكل خلية بكتيرية في طور التطبع تزداد خلال هذا الطور وذلك لان الخلية تزداد في الحجم لا في العدد وبازدياد كتلتها خلال طور التطبع فان كمية انزيمات الخلية الواحدة تكون اكبر لذلك تزداد اعداد المراكز للخلية الواحدة التي تحتاجها للتنفس او لبناء تراكيبها .

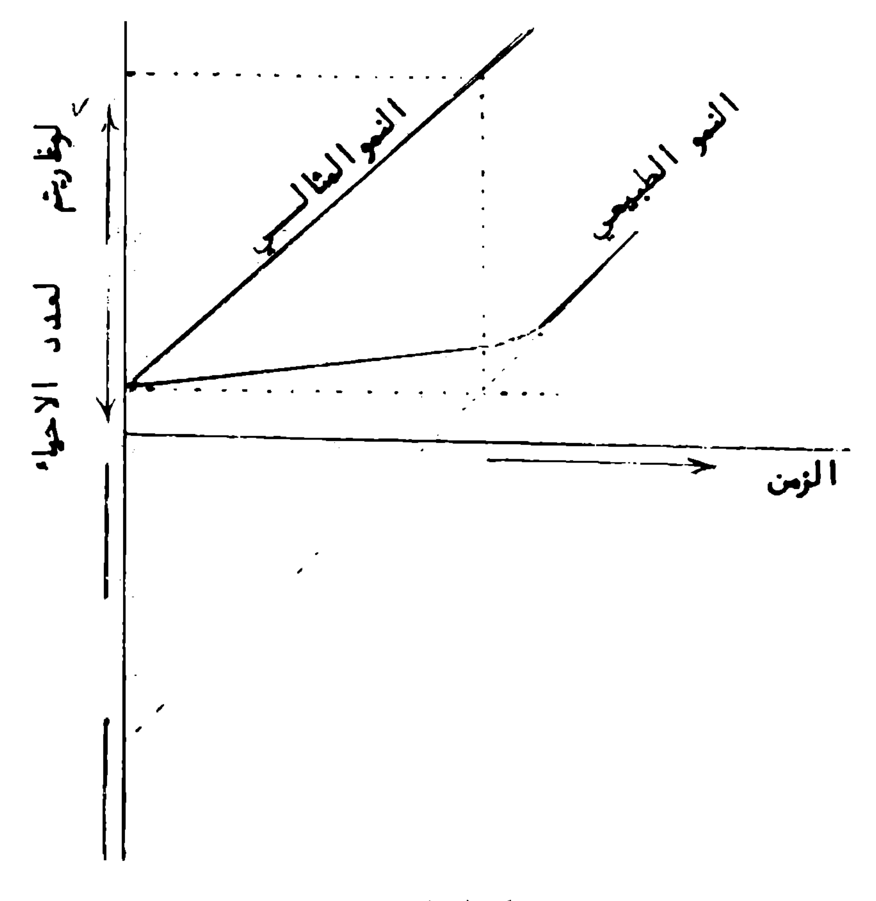
اذا اخذنا اللقاح من زرع وهو في طور الانحدار والذي يحتوي على الكثير من الخلايا الميتة ثم قسنا زمن طور التأخر او التكيف معتمدين على قراءات في الكثافة الضوئية فان النمو لايكون محسوساً وذلك لأن الخلايا الميتة تنشر الضوء ولكنها لاتنمو ولكننا لو اعتمدنا العدد الحي فان طور التكيف يكون اقصراً والنمو يكون محسوساً .

ان الخلايا في هذا الطور لاتزداد فقط في الكتلة ولكن تزداد في تأثرها بالعوامل الفيزيائية كذلك مثل الحرارة والضغط الازموزي ويقال عنها انها في حالة الشباب الفسلجي يمكن حساب كمية الزرع المفقود او عدد الاجيال المفقودة او الزمن الضائع خلال هذا الطور وذلك برسم منحني النمو ثم رسم المنحني المثالي اي من دون وجود طور التطبع والزمن الضائع تكون المسافة بين هذين المنحنين على محور السينات ، أما كمية النمو الضائعة فهي المسافة على المحور الصادي كما هو موضح في شكل (١١) .

(٢) الطور الثاني (طور النمو اللوغاريتمي)

Logarithmic Growth Phase

يبدأ هذا الطور عندما تكون سرعة النمو ثابتة . وخلال هذا الطور تكون جميع الخلايا حية تقريباً وحجمها ثابت وان الاضافة الحاصلة في كمية البروتوبلازم لها علاقة ثابتة مع الاعداد وان قياس الزيادة الحاصلة في احد هذين العاملين ،



الشكل (١١)
يوضح كيفية احتساب كمية النمو الضائعة عند مرور الزرع بفترة التكيف

الكثافة والعدد ، يعطي فكرة عن الزيادة الحاصلة في النهاية . ان هذه العلاقة بين الكثافة والعدد لم تحصل في الطور الاول كما سبق ذكره . ويقال عن الزرع في هذا الطور بانه متوازن اي ان محتويات الخلايا الموجودة تزداد بصورة متساوية وبمعامل أسي . ان القيمة العددية لثابت سرعة النمو يتأثر بعوامل عديدة منها وراثية ومنها بيئية فالنمو المتوازن يكون غير محدود عندما تكون مكونات الوسط الزرعي متوفرة بكثرة بحيث لاتحد من سرعة النمو التي وصل اليها الزرع ، لذا يمكن تعريف النمو المتوازن على انه (النمو الذي تحصل فيه زيادة عددية وبسرعة اسية للاحياء او اي من مكوناتها مثل الانوية او اي تركيب اخر من تراكيب الخلية كذلك تتضاعف مكونات الخلية الواحدة خلال زمن جيل واحد وثبوت احجام الخلايا وتكافؤ سرعة النمو للخليتين المتولدتين حديثاً) .

خلال النمو المتوازن تزداد اعداد الرايبوسومات في الخلية الى العدد الخاص بالانقسام وان سرعة الزيادة في اعداد الرايبوسومات تتناسب طردياً مع سرعة النمو ، وللرايبوسومات قدرة متكافئة لتكوين البروتين ، فالانتقال من النمو المتوازن الى النمو غير المتوازن يؤدي الى تغيير في اعداد الرايبوسومات وليس في قدرتها على تكوين البروتين . اما النمو المتوازن المحدود فيحصل عندما تتحد سرعة النمو بمادة غذائية متوفرة بتركيز معين وثابت . ان هذه الحالة يمكن تطبيقها على الزرع المستمر .

اما العوامل الوراثية التي تؤثر على ثابت سرعة النمو فهي فترة زمن الجيل حيث ان هذا الزمن يختلف باختلاف انواع الاحياء المجهرية ، وعلى سبيل المثال فان بعض انواع البكتريا المعوية لها زمن جيل يتراوح بين ١٥ ـ ٣٠ دقيقة ، بينما نجده في البكتريا المسببة لمرض السل يصل بطوله الى ١٥ ساعة .

(٣) الطور الثالث (طور النمو الاقصى الثابت) Maximum Stationary Phase

ان نفاذ المواد الغذائية او ازدياد المواد المطروحة خارج الخلية نتيجة لفعالياتها الحيوية او كليهما سيؤديان الى توقف نمو الزرع ، فاذا رسمنا منحني النمو بين عدد الخلايا وبين تركيز المواد الغذائية نحصل على علاقة خطية Linear Relationship وتفقد هذه العلاقة عندما تقل المواد الغذائية بدرجة اكبر من ذلك يصبح بعدها تركيز المواد السمية هو العامل المباشر المؤثر على النمو كما مبين في شكل (١٢)

ان انحدار المنحني بين النمو وتركيز المواد الغذائية هو مقياس النمو لكل وحدة من الغذاء المستهلك ويمكن استعمال هذا الانحدار للمقارنة الكمية لقيمة المواد الغذائية عند استهلاكها للنمو ويمكن استعماله كذلك لمعرفة قدرة الاحياء المختلفة للاستفادة من مادة غذائية معينة وعلى سبيل المثال يمكن قياس الانحدارات لبكتريا الاشرشيا كولاي عند نموها في كميات محدودة مختلفة لانواع مختلفة من السكريات كمصدر كربوني .

ان زمن هذا الطور يتأثر بالعامل الذي كان سبباً في تحديد النمو (نفاذ المواد الغذائية او كثرة السموم) . فاذا كان سبب دخول الزرع في طور الثبات هو عدم توفر مادة غذائية تحتاجها الخلية لنموها فيصبح العدد الحي لهذا الزرع والعدد الكلي له وكتلة الزرع بحالة ثابتة في نفس الوقت تقريباً لذلك لايتغير حجم الزرع لعدة ساعات . اما اذا كان السبب تراكم المواد السمية يدخل الزرع طور الثبات تدريجياً كما يحدث عادة عند زرع الخلايا في وسط معقد التركيب نتيجة للفرق في

النمو الكلـــــي

العامل الذى يحد من النمو هو نفاذ الغذاء

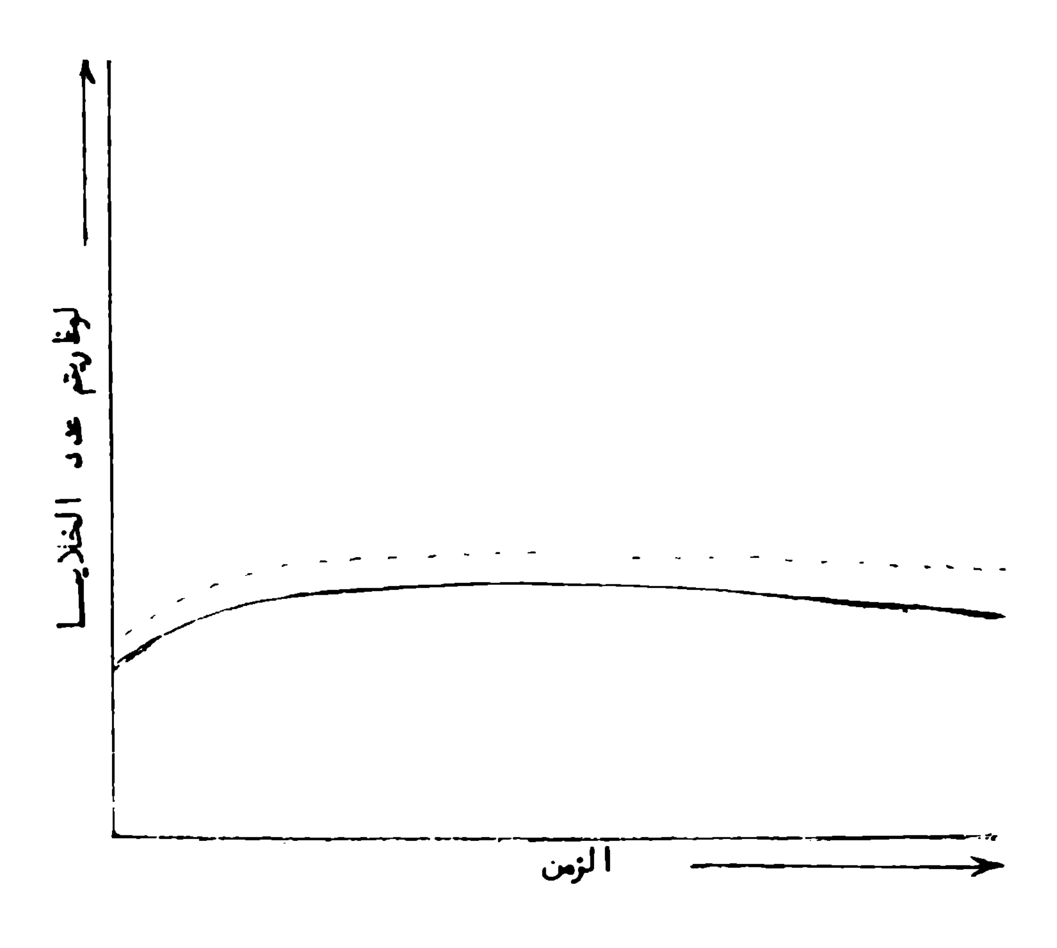
العامل الذى يحد من النمو هو المواد السمية

التركيز الاولي للمواد الغذائية

الشكل (١٢)

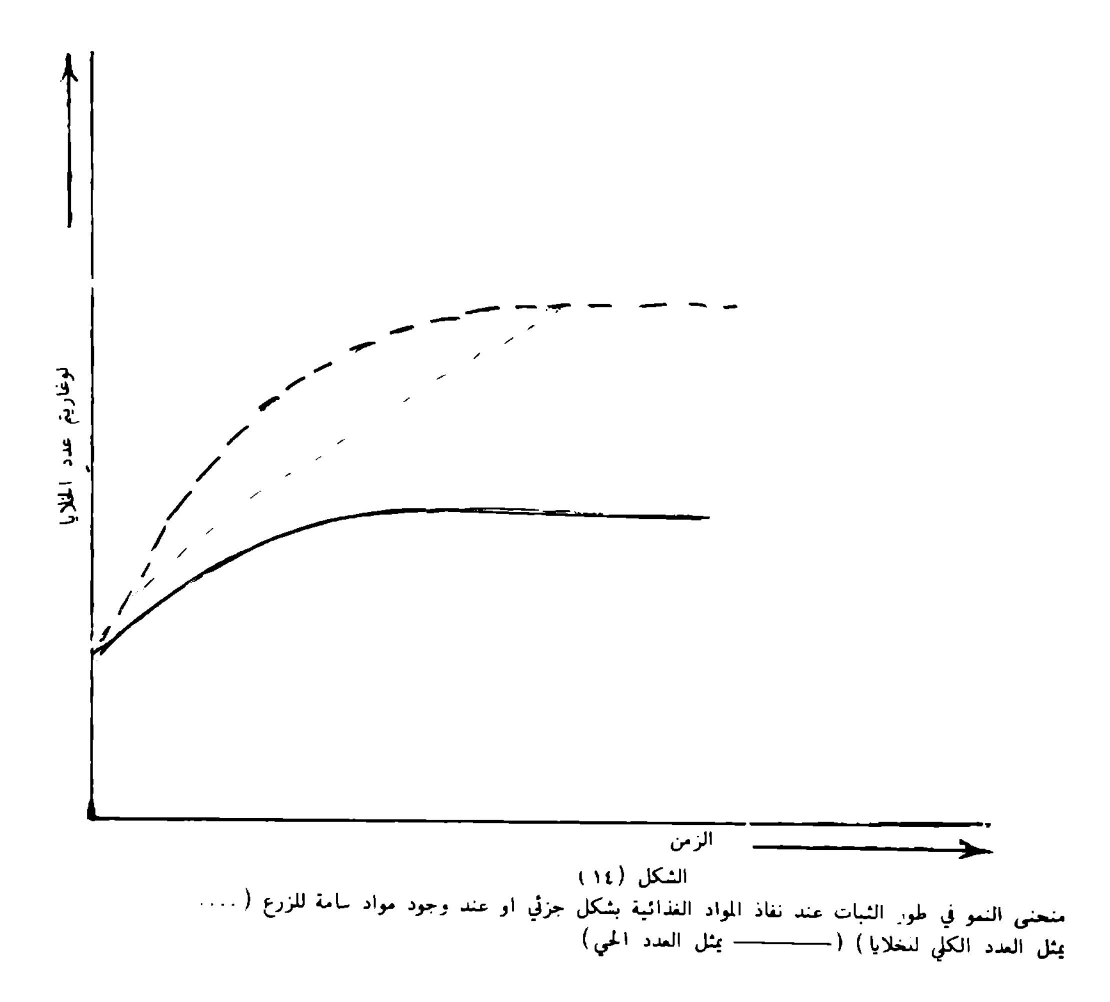
العلاقة بين النمو الكلي وتركيز المواد الغذائية في الزرع الحامل

قدرة الخلايا على تحمل تأثير هذه المواد السمية فيدخل الزرع في هذا الطور اذا اعتمدنا العدد الحي في القياسات ، لذلك يكون طور الثبات عبا.ة عن ظاهرة احصائية تحصل فيها زيادة قليلة في الاعداد لبعض الخلايا وتعادل هذه الزيادة بمات عدد آخر كما مبين في الاشكال ١٣ ، ١٤ ، ١٥ ، ١٦ .



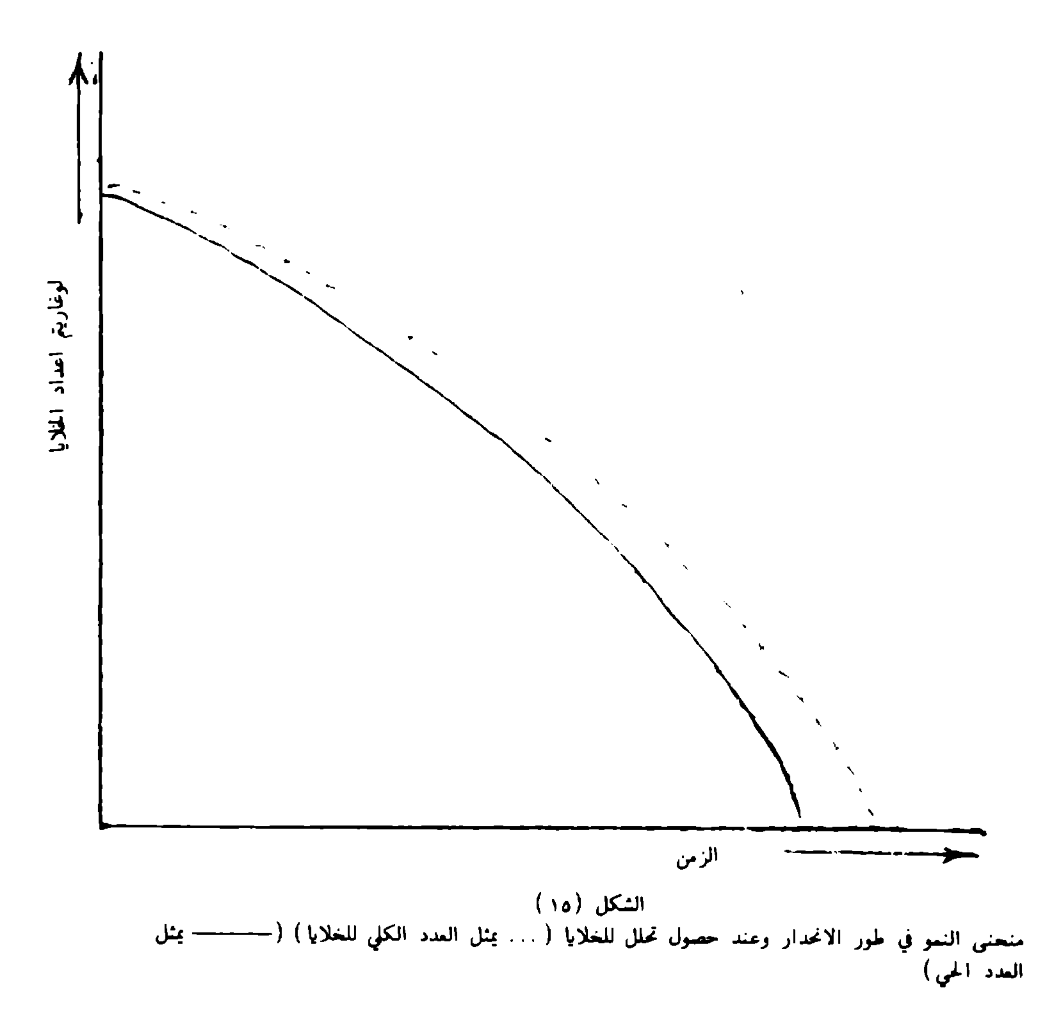
الشكل (١٣)

يوضح منحني النمو عند نفاذ مصدر الغذاء في طور الثبات (.... تمثل العدد الكلي للخلايا) (——— يمثل العدد الحي)



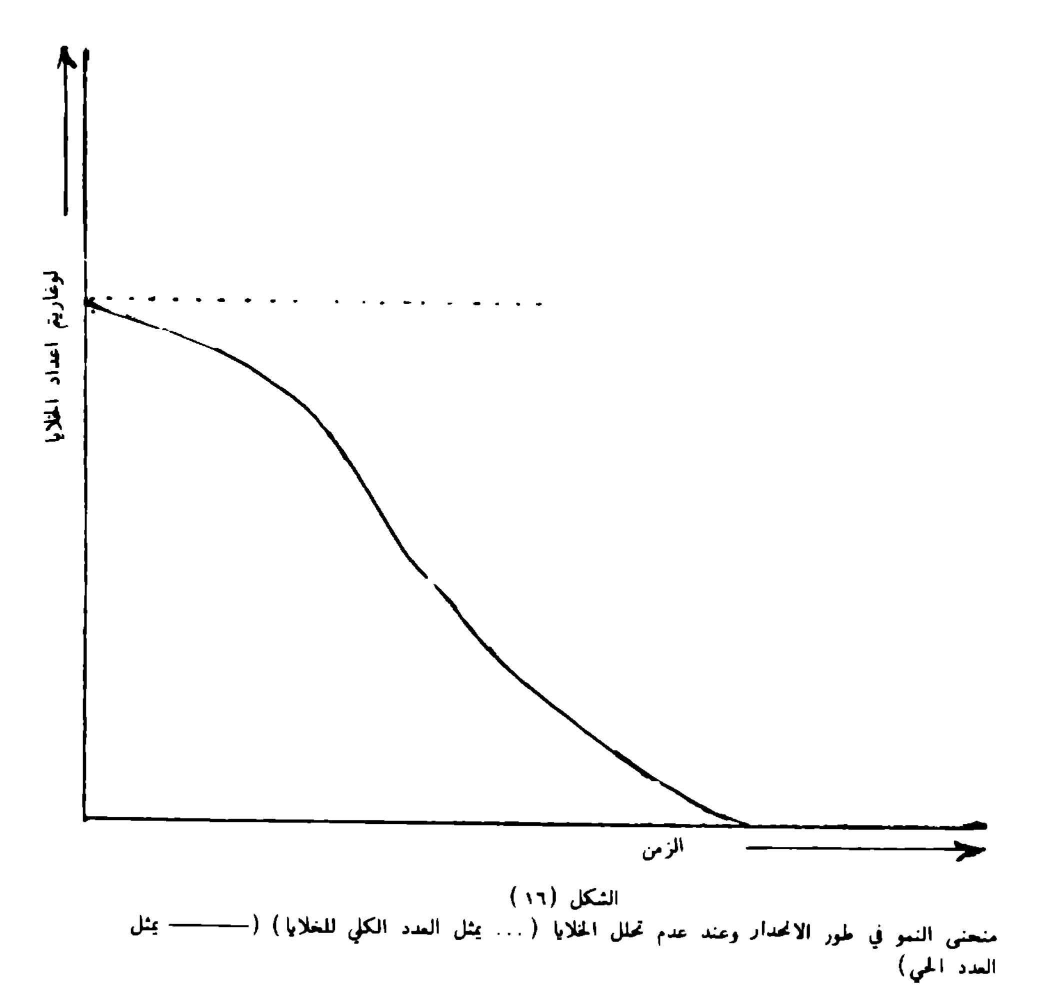
الشكل (١٤)

منحنى النمو في طور الثبات عند نفاذ المواد الغذائية بشكل جزئي او عند وجود مواد سامة للزرع (.... يمثل العدد الكلي لنخلايا) (——— يمثل العدد الحي)



الشكل (١٥)

منحنى النمو في طور الانحدار وعند حصول تحلل للخلايا (... يمثل العدد الكلي للخلايا) (——— يمثل العدد الحي)



الشكل (١٦)

منحنى النمو في طور الانحدار وعند عدم تحلل الخلايا (... يمثل العدد الكلي للخلايا) (——— يمثل العدد الحي)

(٤) الطور الرابع (طور الموت او الانحدار) **Decline Phase**

يأتي هذا الطور بعد طور الثبات وفيه تبدأ الاعداد الحية للزرع بالهبوط . ان سرعة الموت في هذا الطور تكون لوغاريتمية . اذا قسنا كتلة الزرع في هذا الطور نجد انها ثابتة او تأخذ بالانحدار البسيط حتى لو كانت اعداداً كبيرة من الخلايا ميتة وخاصة اذا لم يحدث انحلال بالخلايا ولكن لو حدث التحلل فان كتلة الزرع تقل مع العدد الحي . ان موت الخلايا نتيجة لانعدام الغذاء لايكون فجائياً في هذا الطور وذلك لأن عدم توفر المواد الغذائية في الوسط الزرعي يؤدي الى استغلال خزين المواد داخل الخلية ولفترة من الزمن اذا انتهى هذا الخزين تلجأ عندئذ الى استغلال وحرق بعض تراكيبها للاستمرار في التنفس . ان هذه العملية لايمكن ان تستمر الى مالا نهاية ، وان الخلايا وهي على هذه الحالة من التحلل الذاتي لاتتمكن من النمو حتى لو نقلت الى وسط زرعي جديد . اما اذا كان موت الخلايا هو نتيجة لتراكم السموم فان سبب الموت يعتمد على طبيعة السم فيمكن ان يؤثر السم على فعالية حيوية او على احد تراكيب الخلية او على انزيم وهكذا . ان المعلومات المتوفرة حول هذه النقطة قليلة لذلك نعتمد التكهنات لتفسير حالة طور الانحدار .

طرق قياس النمو

النمو : يعرف النمو بأنه الزيادة المنتظمة لجميع المكونات الكيمياوية للكائن الحي . ويؤدي النمو الى زيادة اعداد الاحياء وحيدة الخلية ماعدا الاحياء المتعددة النوى . اما في الاحياء متعددة الخلايا فأن النمو يؤدي الى زيادة عدد الخلايا وبالتالي الى الزيادة في حجم ذلك الكائن . ان الزيادة الحاصلة في كتلة الخلايا المجهرية قد لاتعبر تعبيرا حقيقياً عن النمو لأن زيادة كهذه قد تنتج من زيادة في احدى المواد المخزونة بالخلية كما يحصل احياناً في خلايا الفطريات ، وليست الزيادة في الأعداد ، وعند استثناء هذه الحالة بالذات اي الزيادة في المواد المخزونة فأن الزيادة في الكتلة يمكن ان تعكس صورة عن النمو .

قياس النمو : في الاحياء وحيدة الخلية يمكن قياس النمو العددي او النمو في الكتلة وكلا القياسين يجب ان يكونا بالنسبة الى وحدة حجمية ثابتة من الوسط الزرعي وهي عادة السنتمتر المكعب او المليلتر (مل) . ولا توجد طريقة يمكن بواسطتها قياس الكتلة والعدد مرة واحدة ولكن يمكن ايجاد العلاقة بين الوزن والعدد للاحياء المتواجدة في حجم معين . لايجب ان تكون كتلة الزرع والعدد متكافئين وذلك لأن كتلة الخلية الواحدة قد تتغير اضافة الى ان الكتلة تزداد بازدياد الزمن وليس من الضروري ان يزداد العدد طول الوقت او بمعنى آخر ان الزيادة في العدد تنقطع خلال الوقت الذي تستغرقه الخلية في الانقسام . ان هذه

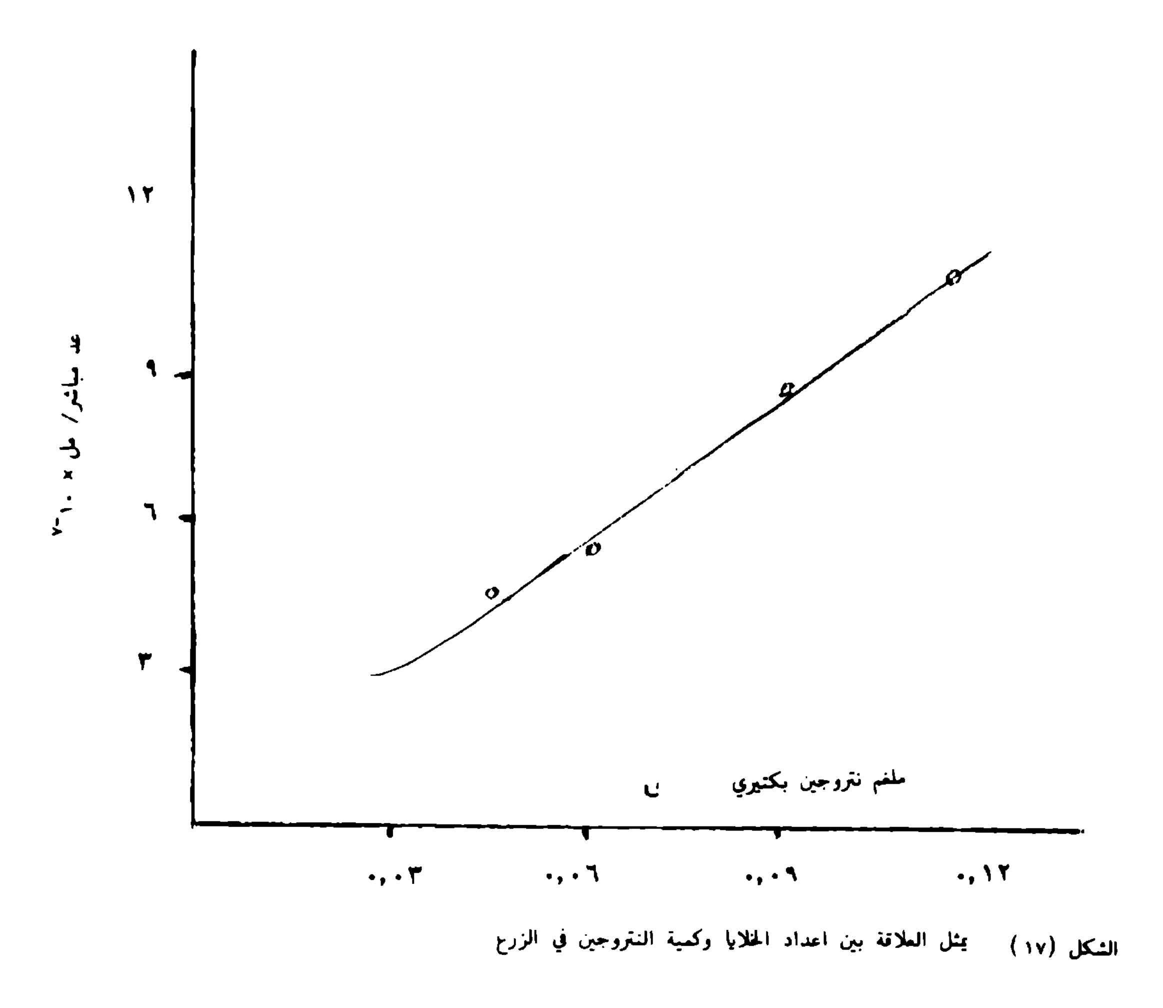
المدة قد تطول او تقصر حسب طول فترة او زمن الجيل الواحد في الخلايا البكتيرية وقد يكون زمن الجيل عدة دقائق او عدة ساعات . ان الفرق بين الكتلة والعدد مهم خاصة في الزرع المنتظم عندما تنقسم خلايا الزرع في آن واحد ولكن الحالة تختلف في الزرع الاعتيادي او غير المنتظم حيث يحتوي الاخير على خلايا في مختلف اطوار الانقسام لذلك تكون الكتلة متكافئة مع العدد .

قياس كتلة النمو : ان الطريقة المباشرة والاكثر استعمالاً وسهولة هي حساب الوزن الجاف للخلايا الموجودة في حجم ثابت . ان هذه الطريقة تهمل محتوى الخلية من الماء والذي يتغير خلال النمو ولكنها عادة افضل من الوزن الرطب والتي يصعب فيها تقدير كمية الماء الذي يرطب سطح الخلايا وتفريقه عن الماء الموجود داخل الخلية . تستعمل هذه الطريقة لقياس نمو الفطريات ولكن من النادر استعمالها لقياس كمية النمو للزرع البكتيري وذلك لانها غير حساسة بصورة كافية لقياس الفروقات بين كتلة الزرع على الفترات القصيرة . وعلى سبيل المثال يبلغ الفرق في الوزن الجاف مابين بليون خلية الى خمسة بلايين بالملغرام الواحد .

وهناك طريقة مباشرة اخرى لقياس كتلة الزرع وهي تقدير كمية النيتروجين او البروتين في الزرع على اعتبار ان هاتين المادتين موجودتان بصورة دائمية بشرط ثبوت تركيب الخلايا خلال فترة النمو .

لقياس مكونات البروتوبلازم يعتمد على تحلل كمية معينة من الخلايا المتواجدة في حجم معين من الزرع للحصول على محتويات سايتوبلازمية يمكن معاملتها مع محاليل خاصة والحصول على مركب ملون تقاس كثافته الضوئية باجهزة خاصة تسمى مقياس لوني Colourimeter او Spectrophotometer . ومثال على ذلك طريقة فولن جيوكالتو Folin- Ciocalteu التي تعتمد على تقدير كمية الحامضين الامينين التايروسين (Tyrosine) والتربتوفان Tryptophan ومنها نستطيع حساب كمية البرتوبلازم . اما قياس كمية النتروجين في الزرع فيمكن استعمال طريقة كلدال Kjeldahl لهذا الغرض وهي تعتمد ايضاً على تحلل الخلايا المتواجدة في حجم معين من الزرع وقياس كمية الامونيا المتحررة . ان طريقة قياس كمية النتروجين او البروتين تعتبر عملية وخاصة عند قياس النمو للاحياء المكونة للمايسيليوم حيث يقاس النمو في فترات زمنية متباعدة قد تكون يوماً او تستمر الى اسبوع ثم يرسم منحنى لهذه القياسات خلال مدة الزرع وتحسب سرعة النمو بايجاد مقدار الانحدار كما في الشكل (١٧) .

وقد يستعاض عن قياس الوزن الجاف او تقدير كمية النتروجين او البروتين بطرق اخرى غير مباشرة منها حساب فعالية انزيم معين او سرعة فعالية حيوية معينة مثل التنفس او التخمر . ولحساب كمية البروتوبلازم بواسطة التنفس تعلق

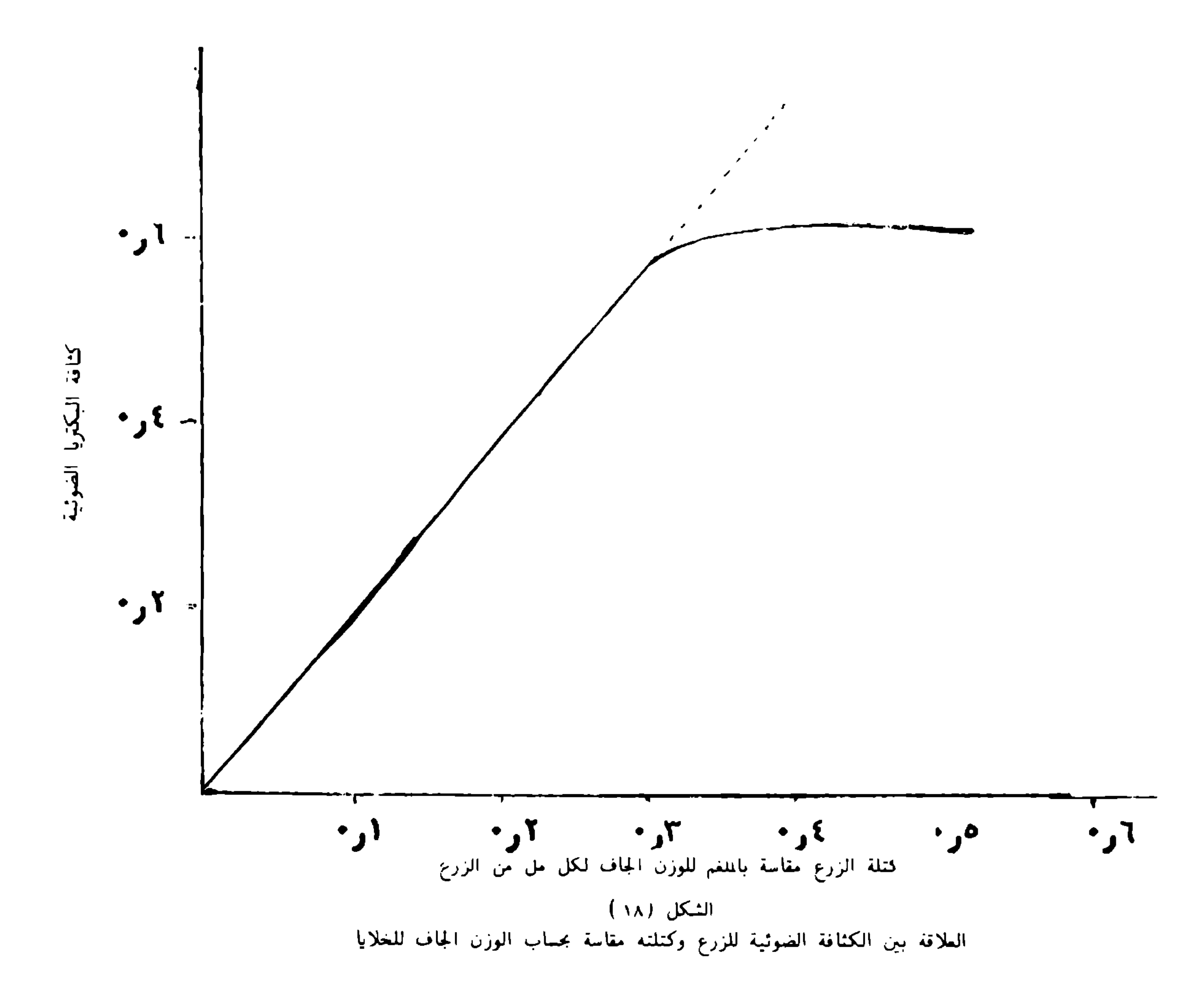


الشكل (١٧) يمثل العلاقة بين اعداد الخلايا وكمية النتروجين في الزرع

الخلايا البكتيرية في وسط حاو على مادة كبربوهيدراتية تستخدم كمصدر للطاقة وتقدر كمية الاوكسجين المستهلك بواسطة العالق كما ويمكن استخدام نفس الطريقة لتقدير كمية حامض مثل حامض اللاكتيك .

ان الطريقة البصرية لقياس كتلة الزرع لكائن حي تستعمل بكثرة لذا ستبحث بصورة اوسع من الطرق الاخرى ان هذه الطريقة تستعمل في مجالات كثيرة وخصوصاً في علم البكتريا باعتبار ان عالق البكتريا يشبه السوائل الغروية في قدرتها على نشر الضوء الذي يمر بالعالق . ان انتشار الضوء هذا يتناسب طردياً وبحدود معينة مع التركيز وتسمى هذه الطريقة بقياس التكدر او التعكر Turbidimetry تعتمد هذه الطريقة اما على قياس كمية الضوء المفقود من حزمة ضوئية معينة مارة بعالق او حساب الضوء المنتشر بصورة مباشرة . يمكن اجراء هذه القياسات بواسطة اجهزة خاصة وحساسة . ان طريقة قياس الضوء تعتمد على خاصية معينه وهي ان كمية الضوء المنتشر بواسطة مادة معينة وفي زاوية معينة يتناسب طردياً (عدا التراكيز القليلة للمادة) مع عدد الدقائق العالقة ، لكن في كثير من الاحيان يراد قياس عدد البكتريا مثلا في زرع كثيف . في هذا النوع من الزرع لاتكون العلاقة طردية بين عدد الدقائق (البكتريا) مع الضوء المنتشر لذلك يجب ان تخفف الزروع الى درجة مناسبة كذلك يجب ان كمية الضوء المنتشر بواسطة الوسط قليلة . وبما ان انتشار الضوء يعتمد ايضاً على شكل الجزيئة وليس على عددها فقط ، لذلك يجب استخدام الزرع عندما تكون خلاياه ثابتة الحجم والشكل وطول السلاسل ان وجدت والا تغير التعكير . يحدث هذا عادة في الزرع القديم او الزرع الحاوي على مواد قاتلة للبكتريا او مواد سامة . كذلك يجب ملاحظة ان الخلايا الميتة ايضاً قد تنشر الضوء . وعلى ذلك فان القراءات او القياسات سوف لاتعطي اعداد الخلايا الحية في الزرع . كذلك قد تحصل تغيرات في معامل الانعكاس للضوء في الخلايا تبع حالة النمو ، الغذاء ، تركيز ايون الهيدروجين والتي يجب ان تؤخذ بنظر الاعتبار كما وان الاحياء التي تكون سلاسل يجب ان تفكك خلاياها قبل حساب الاعداد وتستعمل عادة لهذا الغرض الامواج الصوتية العالية الذبذبة ، ولكن كما اسلفنا سابقاً تعتبر طريقة قياس التعكر عملية في كثير من الاحيان لسهولتها ولانها تختصر الكثير من الوقت المستغرق في حساب الاعداد الكلية للزرع البكتيرية .

ويمكن ايجاد العلاقة بين كتلة اي عالق للخلايا والكثافة الضوئية له وفي اي طور من اطوار النمو . وعند ايجاد هذه العلاقة عندئذ يمكن حساب كتلة الزرع بواسطة حساب كثافة الضوء . ولهذه الغاية تؤخذ قياسات للوزن الجاف وتقرأ الكثافة الضوئية لنفس العينة . ومن الضروري في هذه الحالة ايجاد المنطقة التي تقع فيها علاقة طردية بين كتلة الزرع والكثافة الضوئية كما في شكل (١٨) .



الشكل (١٨)
العلاقة بين الكثافة الضوئية للزرع وكتلته مقاسة بحساب الوزن الجاف للخلايا

ان الحد الادنى لحساسية هذه الطريقة تكون في العالق الحاوي على عشرة ملايين خلية لكل مل .

يمكن حساب كتلة الزرع بدرجة عالية من الحساسية بواسطة المواد المشعة وعلى سبيل المثال يمكن تشعيع حامض اميني يوفر على شكل غذاء في الوسط الزرعي ثم يقاس مقدار الاشعاع في البروتين الناتج .

قياس العدد :

يمكن حساب اعداد الكائنات وحيدة الخلية باستعمال المجهر وذلك بحساب اعداد الخلايا في حجم صغير جدا من السائل مقاس بصورة دقيقة ويستعمل لهذا الغرض شرائح خاصة حاوية على علب في ثلاثة ابعاد معلومة يوضع فيها العالق ويتم حساب اعداد الخلايا تحت المجهر . ان هذه الطريقة لاتفرق بين الخلايا الحية والميتة لذلك تدعى بطريقة حساب العدد الكلي . ان الطريقة لاتعتبر من الطرق الحساسة جدا وذلك لأن العالق يجب ان يكون كثيفا نوعا ما ويحتاج الفحص ايضا الى تكبير عال لرؤية الخلايا الصغيرة مثل البكتريا وفي حجم صغير جدا من السائل . يمكن حساب عدد البكتريا بهذه الطريقة فقط عندما يكون عددها عشرة ملايين خلية واكثر لكل مل . وهناك طرق غير مباشرة وحديثة لقياس عدد الاحياء في زرع معين وذلك بواسطة اجهزة بصرية الكترونية لمسح وحساب عدد الخلايا بصورة اوتوماتيكية ومن هذه الاجهزة عداد كولتر (Coulter Counter) الالكتروني والذي يقيس التوصيل الكهربائي للعوالق وذلك بامرار الجزيئات العالقة منه خلال ممر ضيق يقطعه تيار كهربائي . يمكن حساب حجم وعدد البكتريا بهذا الجهاز ولكن يجب الأخذ بنظر الاعتبار عند قياس الحجم التغاير الحاصل في حجوم الخلايا الموجودة في ذلك العالق كما وان الجهاز لايميز بين الخلايا الكبيرة الحجم وبين خليتين في الاطوار الاخيرة من الانقسام والتي لم تنفصل بعد . يمكن قياس الاحياء وحيدة الخلية بواسطة العد على الصفائح او الاطباق بعد تنميتها . تنمو الخلية الواحدة الى مزرعة يمكن مشاهدتها وعدها بعد فترة الحضانة . يمكن تخفيف الزرع الكثيف وحساب عدد خلاياه اما بخلط احجام صغيرة من التخافيف مع الاغاروز وصبها في الطبق او زرعها على سطح الاغاروز في طبق او انبوب اختبار يدور اثناء الصب لعمل طبقة رقيقة من الاغاروز على جدرانه . وتستعمل في بعض الاحيان انابيب شعرية لعد الخلايا اللاهوائية المعيشة . ويكون العد بواسطة ماسح كهربائي ضوئي (Photoelectric Scanner) والذي يمكن بواسطته عد مزارع قطرها ٨ ميكرون ان جميع الطرق التي يستخدم فيها عد المزارع تسمى طرق العد الحي (Viable Count) وهي على عكس العد تحت المجهر حيث تحسب الخلايا التي لها القدرة على النمو فقط وهي اكثر الطرق حساسية . ويمكن بواسطة هذه الطرق

حساب الخلية الواحدة الموجودة في عالق ولتقليل الخطأ الحاصل من التخافيف ونقل الاحجام الصغيرة الى اطباق الزرع يعمل عادة طبقان او اكثر لكل تخفيف ويؤخذ المعدل . ان العد العملي للحساب هو من ٣٠٠ ـ ٤٠٠ خلية للطبق الواحد ويمكن دمج طريقتي العد بواسطة الشريحة والعد بواسطة الاطباق للحصول على نسبة الاعداد الحية من الزرع او استعمال طريقة التكدر والعدد الحي لمعرفة هذه النسبة وتوجد هناك طريقة اخرى لحساب العدد الحي وهي استعمال مرشحات تسمى مليبور (Millipore Filter) وهي مرشحات تكون اقطار فتحاتها قياسية ومنتظمة ، ويمرر السائل المراد حساب الخلايا فيه من خلالها . توضح المرشحات على سطح الاوساط الزرعية وتحسب اعداد المزارع النامية على سطح المرشح . تكون هذه المرشحات رقيقة بحيث يمكن ان تنفذ المواد المغذية من خلاله الى الخلايا على سطحه . وهناك طريقة اخرى لحساب الخلايا الحية والتي تستغرق وقتا اقصر من الطرق السابقة وهي طريقة الزرع على شرائح مجهرية يتم عد المزارع تحت المجهر بعد عدة انقسامات فقط . ويمكن بواسطة هذه الطريقة حساب نسبة الخلايا الحية الى الميتة حيث تنمو الحية الى مزارع وتبقى الاخرى منفردة بلا انقسام .

العوامل المؤثرة على النمو

عند نمو الاحياء في الطبيعة او الوسط المغذي يحدث تبادل في المواد والطاقة مما يؤثر على سرعة النمو او كميته . ان الكائن الحي يمتلك ذاتيا بعض العوامل التي تؤثر على نموه والعوامل الاخرى توجد في الطبيعة او في بيئته . فالعوامل الذاتية والتي تعرف بالوراثية هي التي تحدد كيفية تصرف الكائن الحي تجاه بيئته ومحيطه وهي مسئولة عن التغاير في التصرفات بين نوع واخر موجودان في نفس البيئة . وتبقى بعض القدرات الوراثية كامنة وغير معروفة بوجودها الا عندما تكون البيئة او المحيط ملائمين لاظهارها . ان القدرة على التكاثر والنمو هي احدى الصفات للاحياء والتي تميزها عن الاموات . ففي النمو العددي للاحياء المجهرية تتكاثر الخلايا اما الانشطار الثنائي البسيط كما في البكتريا او بالتبرعم كما في الخمائر او بطرق اخرى مستغرقة بذلك بعض الوقت والذي يسمى زمن الجيل . ففي البكتريا يمكن تعريف زمن الجيل بأنه تلك الفترة الزمنية الواقعة بين انقسامين . يختلف زمن الجيل من جنس الى اخر حيث يستغرق عدة دقائق في بعض الاجناس او عدة ساعات في بعضها الآخر . ان الاختلاف في زمن الجيل هذا يؤدي الى الاختلاف في سرعة النمو من نوع الى آخر من الاحياء المجهرية وبالتالي يؤدي الى الاختلاف في كمية الزرع عندما تكون جميع الظروف الاخرى ثابتة . ان هذا العامل تكون سيطرته وراثية ولكن يمكن تقصيرة او اطالته بتغير بعض العوامل البيئية ولكن ضمن حدود السيطرة الوراثية . فمثلا اذا كان الوقت

الادنى لزمن الجيل ١٥ دقيقة تحت ظروف ملائمة للنمو لايمكن تقصيره اكثر من ذلك بنفس الظروف الملائمة . اما العوامل البيئية المؤثرة على سرعة وكمية النمو فهي كما يلي : -

١ - درجة الحرارة

تؤثر درجة حرارة الزرع على الفعاليات الحيوية في الخلية والتي اجريت دراسة العديد منها بصورة مفصلة باستعمال الزرع المستمر وذلك لسهولة السيطرة عليه في مثل هذه الدراسات . وصف علماء الطبيعة تاثير الحرارة على التفاعلات او العمليات الحياتية بمعامل اطلق عليه اسم معامل الحرارة او قيمة Q_{10} والتي تساوي سرعة التفاعل او العملية بدرجة معينة مقارنة مع سرعتها بدرجة حرارة مقدارها ١٠م اقل من تلك الدرجة كما في المعادلة التالية : -

$$Q_{10} = \frac{K_{t+10}}{K_t}$$

K = ثابت السرعة   t = درجة الحرارة

قيست قيمة عامل الحرارة لمعظم العمليات الحياتية فوجدت انها تقع بين ٣ ، ٤ عند درجة حرارة الغرفة (١٨° - ٢٢°) وتقل هذه القيمة عند ارتفاع درجة الحرارة فمثلا قيمة Q_{10} لنمو البكتريا اشريشيا كولاي **Escherichia Coli** في درجة حرارة ١٥° - ٢٥° م تبلغ ٤,٢ وان هذه القيمة تنخفض الى ١,٠٤ بدرجة حرارة ٣٥°م - ٤٥°م .

ان كل فعالية حيوية تقوم بها الاحياء المجهرية وتتأثر بالحرارة لها درجة حرارية دنيا وفضلى وعليا . ان المدى الحراري للنمو في الاحياء يقع بين- ٥°م و ٨٠° م وان الاحياء المجهرية تختلف في تجاوبها مع الحرارة ضمن هذا المدى . ان المدى الحراري الذي يكون النمو فيه على افضله وبالسرعة القصوى يسمى بالمدى الحراري الافضل **Optimum Tempreture** . ان قيمة هذا المدى تعتمد على القياسات المعتمدة للنمو حيث يمكن استعمال سرعة النمو او النمو الكلي . فقد وجد ان درجات الحرارة الفضلى (بالاعتماد على سرعة النمو) هي بضعة درجات اعلى من الدرجات الفضلى (باعتماد حاصل الزرع) . ان الابتعاد في كلي الاتجاهين عن هذا المدى الحراري يؤدي الى نقصان سرعة النمو حيث يكون النقص بدرجة محسوسة جدا عند رفع درجات الحرارة عن الفضلى وبدرجة اقل عندما تخفض الدرجة . ان الحد الحراري الاقصى للنمو يعتمد ويتحدد بنوع الانزيمات او مدى

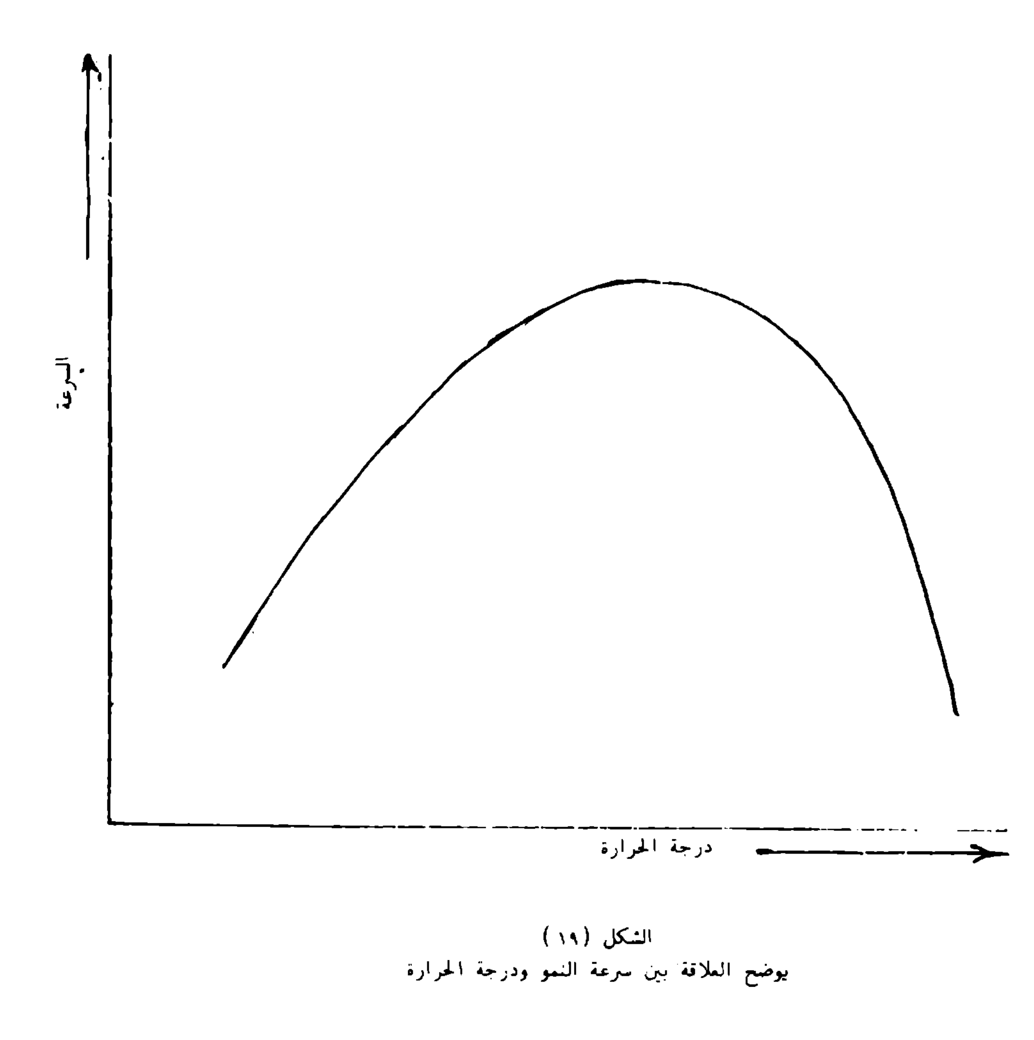
تأثر البروتينات داخل الخلية بالحرارة . ان هذه الدرجات تكون عادة فوق الدرجات الفضلى والتي يحدث فيها نمو لذلك الكائن اما الحد الحراري الادنى فهو الدرجات الحرارية الاوطىء والتي يحدث فيها نمو وتتحدد هذه الدرجة بانجماد الماء وتركيز المواد المذابة فيه . ان هذه الدرجات الحرارية الثلاثة الدنيا والفضلى والقصوى تسمى درجات الحرارة الرئيسية Cardinal Temperatures وان قيمة هذه الدرجات لكل كائن مجهري تختلف باختلاف المواد الغذائية في الوسط الزرعي وباختلاف الحالة الفيزيائية له .

تقسم الاحياء المجهرية الى ثلاثة مجموعات تعتمد على قيم درجات الحرارة الفضلى والدنيا للنمو فالاحياء التي تألف درجات الحرارة المعتدلة **Mesophiles** لها درجات حرارة فضلى تقع في المدى ٢٥° م ــ ٤٠° م ، والاحياء المجهرية التي تنمو بصورة افضل بدرجات حرارية اعلى من ٤٠° م تسمى الاحياء الأليفة لدرجات الحرارة العالية **Thermophiles** وتظم هذه المجاميع بعض انواع البكتريا وبعض الطحالب الزرقاء المخضرة وقليل من الفطريات . اما الاحياء المجهرية التي تفضل درجات الحرارة الواطئة والتي تقع دون المدى الحراري ٢٥° م ــ ٤٠° م فتعرف بالاحياء الأليفة للبرودة Psychrophiles ، ان هذه الاحياء تستطيع النمو بسرعة معقولة بدرجات حرارة تقع بين ٠° م ــ ٥° م لذلك يمكن تعريف هذه المجموعة بأنها الاحياء التي تملك ادنى درجة حرارية للنمو بمقارنتها مع المجموعة الأليفة للدرجات الفضلى والمجموعة الأليفة للدرجات العالية ان الدرجات الحرارية الفضلى للعديد من الاحياء الأليفة لدرجات الحرارة الواطئة تقع في نفس المدى الحراري للاحياء الأليفة لدرجات الحرارة المعتدلة والتي تساوي ٢٥° م ــ ٤٠° م .

تتحدد درجات الحرارة الفضلى لنمو الاحياء المجهرية بمدى تأثر جميع تفاعلات الخلية التي تشترك فيها الانزيمات . ان الانخفاض السريع في سرعة النمو عند رفع درجات الحرارة اكثر من الفضلى يأتي نتيجة لفقدان طبيعة الانزيم Denaturation الذي يسيطر على سرعة النمو وربما انزيمات اخرى ايضا تتأثر سرعة الانزيمات بالحرارة على الشكل التالي وكما موضح بالشكل (١٩) .

ولقد وجد ان الاحياء الأليفة للحرارة العالية تملك انزيمات اكثر استقرارا لهذه الدرجات ولا تفقد طبيعتها بسهولة . ان هذا الاستقرار يعتمد بصورة اساسية عند بعض هذه الانزيمات على بعض التركيبات الثانوية او الثالثة . كما ويمكن ان تعتمد على اتحاد الانزيمات مع بعض الجزئيات ذات الاوزان الجزيئية الواطئة .

ان المعلومات المتوفرة لمعرفة الطبيعة الكيميائية الحياتية لدرجات النمو الدنيا للاحياء المجهرية وقدرة الاحياء الأليفة للبرودة على النمو بدرجات حرارية قريبة من الصفر تنص على ان التنفس والنمو يستمران بخفض درجات الحرارة ولا يتوقفا الا اذا تجمد الوسط الزرعي . ولقد وجد ان هذا صحيح بالنسبة الى



الشكل (١٩)
يوضح العلاقة بين سرعة النمو ودرجة الحرارة

الاحياء الجهرية الأليفة للبرودة والتي لها درجات حرارية دنيا للنمو بأقل من صفر مئوي . اما الاحياء الأليفة لدرجات الحرارة المعتدلة فهي لاتتكاثر عند وضعها بحاضنة بدرجة حرارة اقل من ٥ْ م الى ١٠ْ م ولكنها تستمر في التنفس حتى اذا خفضت الدرجة الى صفر مئوي لقد اقترحت طريقة لايجاد درجات الحرارة الدنيا لنمو الاحياء الأليفة للحرارة المعتدلة بانها الدرجة التي يتوقف فيها عبور المواد المذابة في الوسط خلال الغشاء السايتوبلازمي .

٢ ـ الاوساط الزرعية وطبيعتها :

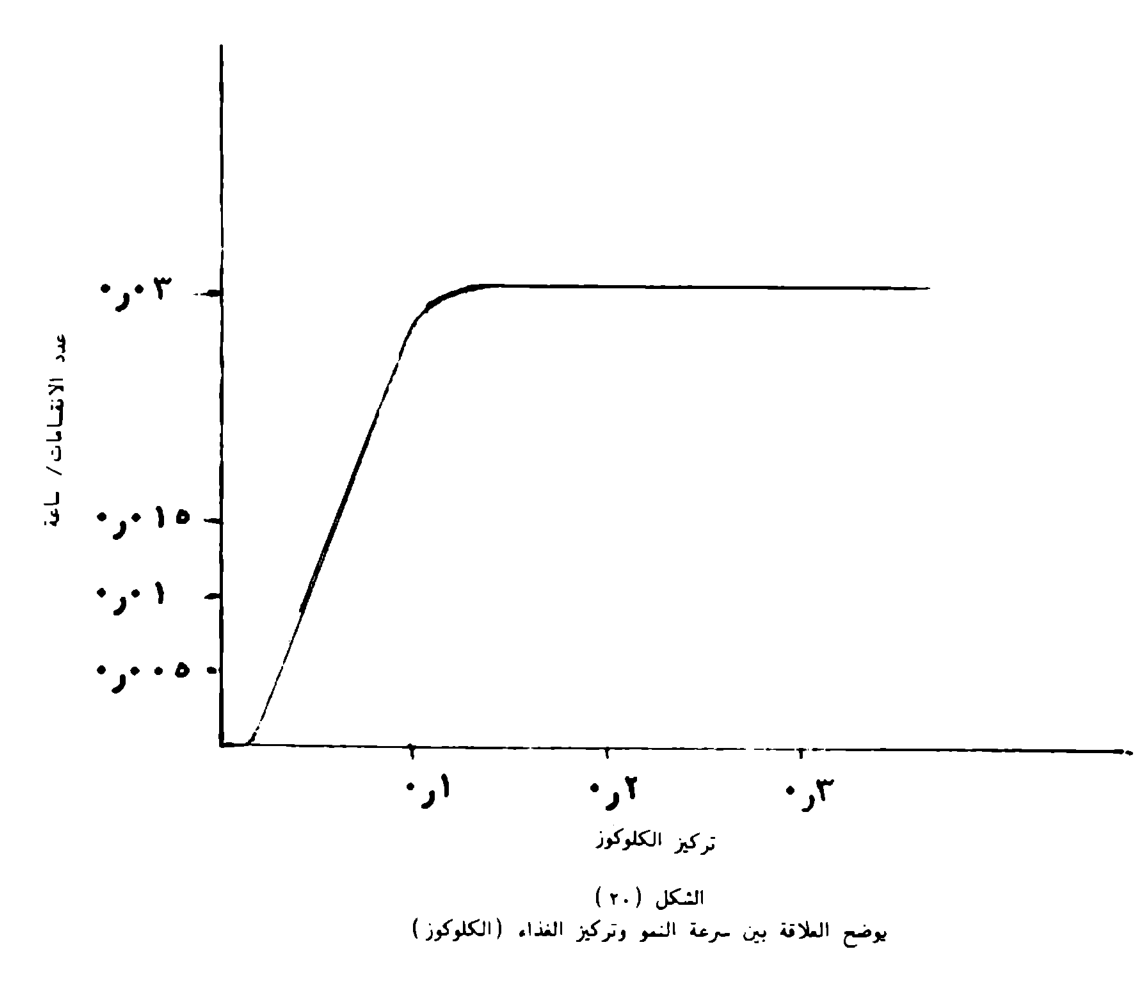
تؤثر محتويات الاوساط الزرعية بصورة مباشرة على سرعة نمو الاحياء الجهرية عندما تكون تراكيز مكوناتها قليلة جدا ، اي في الاوساط الزرعية المخففة حيث تكون العامل الرئيسي المسيطر على السرعة . ففي الاوساط الزرعية المخففة تتناسب سرعة النمو تناسبا طرديا مع تركيز المواد الغذائية التي تعتمد عليها الاحياء عند النمو كما في شكل (٢٠) .

يمكن زيادة سرعة النمو بتعويد وتكيف الكائن الحي على النمو في وسط معين . لقد وجد ان مجرد توفر مادة غذائية معينة في الوسط الزرعي لايكفي للاستفادة منها من قبل الاحياء النامية فيه . ولأجل استفادة تلك الاحياء من هذه المادة الغذائية يجب ان تنقل تلك المواد الى داخل الخلية ، ففي الاحياء الجهرية توجد بعض الانزيمات وتسمى الانزيمات الناقلة **Permeases** والتي تستعمل لهذا الغرض .

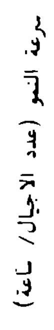
بما ان عمل الانزيمات متخصص فأن كل مادة او مجموعة متشابهة في التركيب لها انزيم متخصص لنقلها الى داخل الخلية . لقد وجد نتيجة لدراسات وراثية ان الاحياء التي حصلت فيها طفرة فقدت بواسطتها انزيم ناقل معين تحتاج الى تراكيز قد تصل الى الف مرة اكثر من الاحياء الامهات اللواتي لم تحدث فيها طفرة كي تصل الى نفس سرعة النمو . لدراسة تأثير تركيز مادة معينة على النمو ولمقارنة تأثير مواد غذائية مختلفة على نمو كائن مجهري تستعمل عادة تراكيز تعطى نصف السرعة القصوى كما مبين في شكل (٢١) .

٣ ـ الرقم الهيدروجيني

ان تركيز ايون الهيدروجين او الرقم الهيدروجيني يؤثر على فعاليات حيوية عديدة للاحياء الجهرية . من الفعاليات التي تتأثر بتركيز ايون الهيدروجين كمية النمو وسرعته حيث توجد تراكيز قصوى وفضلى ودنيا للنمو وتختلف هذه التراكيز باختلاف الاحياء لذلك يجب تعديل الرقم الهيدروجيني في الوسط الزرعي قبل زرع الاحياء فيه . ان التركيز الافضل لأيون الهيدروجين لنمو الاحياء الجهرية



الشكل (٢٠)
يوضح العلاقة بين سرعة النمو وتركيز الغذاء (الكلوكوز)



الشكل (٢١) كيفية حساب تركيز المادة الغذائية التي تعطي نصف السرعة القصوى للنمو

واطى ويكون سميا او قاتلا في تراكيزه العالية ان حدود الرقم الهيدروجيني التي تنمو فيها الاحياء هي ٠ / ٤ - ٠ / ٩ ولكل كائن حي يوجد مدى من التركيز يتمكن ان ينمو خلاله.. ولنمو الفطريات عدا الاكتينومايسس **Actinomyces** تعدل الاوساط الزرعية قبل زرعها الى تركيز لايون الهيدروجين مقداره ٥أ و ٦ اما الخمائر فهي تفضل تركيز ٤ وتنمو معظم انواع البكتريا بتراكيز قريبة التعادل ولاتتمكن من تحمل تراكيز واطئة ٤أ و ٥ وهناك بعض الشواذ لهذه القاعدة حيث تتحمل بعض انواع البكتريا مثل بكتريا الكبريت التي لها القدرة على اكسدة الكبريت الى حامض الكبريتيك تراكيز قد تصل الى ٢ . وهناك انواع من البكتريا تتحمل درجات قاعدية من التركيز مثل البكتريا التي تصيب المجاري البولية في الانسان والتي لها القدرة على تحليل اليوريا الى امونيا وتتحمل العيش بتراكيز مقدراها ١١ . ان مدى تركيز ايون الهيدروجين يتأثر بدرجة حرارة الحضانة فترتفع التراكيز الفضلى لبعض الفطريات بالارتفاع القليل لدرجة حرارة الحضانة كما وجد في الفطر فاسيديوم انفستانس **Phacidium infestans** حيث تكون ٤,٥ بدرجة حضانة ٥°م وتكون ٥,٠ م بدرجة حضانة ١٠°م وتكون ٥,٥ بدرجة حضانة ١٥°م وتصل الى ٦,٠ بدرجة حضانة ٢٠°م . تمتلك بعض الفطريات مديين فضليين لتركيز ايون الهيدروجين كما هو الحال في الفطر فيوزاريوم ليكوبرسيسي **Fusarium lycopersici** عند نموه على الوسط الزرعي الحاوي على الكلوكوز والنترات . يكون المدى الافضل الأول لتركيز ايون الهيدروجين لهذاالفطر وبهذا الوسط بين ٤,٥ - ٥,٣ والمدى الافضل الثاني بين ٥,٨ - ٦,٨ . ان تركيز ايون الهيدروجين لايؤثر على نمو الزرع فقط بل على شكله ايضا كما هو الحال في الفطر بنسيليوم كريسوجينم **Penicillium Chrysogenum** فأذا زاد تركيز ايون الهيدروجين في الوسط الزرعي عن ٦,٠ يقصر طول الهيفات لهذا الفطر واذا وصل التركيز الى ٦,٧ فتكون الهيفات على شكل كتل . يمكن قياس الحد الادنى لتركيز ايون الهيدروجين والذي تتمكن الاحياء الدقيقة من العيش فيه وذلك بترك الزرع لفترة طويلة وقياس التركيز بين فترة زمنية واخرى . اما التركيز الاقصى فيصعب قياسه وذلك لتكون بعض المواد العرضية اثناء النمو القليل عند بداية الزرع مما يغير التركيز وعند ذلك يكون من الصعب الادعاء بأن هذا التركيز هو الاقصى .

تحتوى معظم الاوساط الزرعية المستعملة لتنمية الاحياء المجهرية على دوارىء (بفر) ولكن هذه الاوساط وبعد فترة من النمو لاتبقى محافظة على نفس تركيز ايون الهيدروجين حيث يتغير الرقم وبدرجة ملحوظة تصعب السيطرة عليه خصوصا في الزرع الراكد . وبالرغم من التغيرات الحاصلة في المحيط فأن سايتوبلازم الخلية يبقى محافظا على نسبته من تركيز هذه الايونات وذلك لان

الغشاء السايتوبلازمي غير ناضج نسبيا لأيون الهيدروجين او الهيدروكسيل . اما الغشاء السايتوبلازمي نفسه فأن الانزيمات الموجودة فيه تتأثر بتركيز ايون الهيدروجين مما يؤدى الى تأثر الفعاليات الاخرى بذلك .

٤ ـ الاوكسجين

لايوجد كائن مجهري لايتأثر بالاوكسجين بطريقة او اخرى . تعتمد الحياة في بعض هذه الاحياء على وجود الاوكسجين بينما في البعض الآخر تكون كميات قليلة منه سمية وفي احياء اخرى يقوم الاوكسجين بتغيرات اساسية في فعالياتها الحيوية فهو اما ان يكون محفزا للانزيمات او مثبطا لها . ان هذا التغاير الكبير في تجاوب الاحياء مع الاوكسجين المذاب جعل ايجاد ميكانيكية موحدة امرا صعبا . ويمكن اختصار التفاعل بين الاوكسجين والاحياء في النقاط التالية :

أ ـ يلعب دورا في تحرر الطاقة عند التنفس وسيأتي ذكر هذا التفاعل في الفصل السادس .

ب ـ يكون الاوكسجين مادة غذائية في الاحياء ذوات النواة الحقيقية اليوكاريوتات (Eukartotes) مثل الفطريات والخمائر حيث يدخل الاوكسجين في تركيب الاحماض الدهنية غير المشبعة والستيرولات . وبما ان هذه الاحياء لاتتمكن من تكوين الاحماض الدهنية غير المشبعة تحت ظروف لاهوائية مما يجعل وجود الاوكسجين ولو بكميات قليلة امرا ضروريا . اما في معظم انواع البكتريا فالاوكسجين الجزيئي لايشكل مصدرا لما تحتاجه منه فيما عدا بعض الانواع التي تعتمد على المواد الهيدروكربونية كمصدر كربوني وحيد . في هذه الانواع من البكتريا يستلم الاوكسجين لأكسدة اول ذرة من الكربون بواسطة انزيمات خاصة تسمى اوكسيجينات Oxygenases . وفي الحالات التي تحتاج فيها الاحياء المجهرية الى الاوكسجين اما للبناء او للتنفس يحصل نوع من التنافس عليه بين هاتين الفعاليتين الحيويتين وخاصة عندما يكون تركيزه في الوسط قليلا .

ان بعض الاحياء المجهرية تحتاج الى الاوكسجين الجزيئي كحاجة النباتات والحيوانات العليا اليه فهي مضطرة للعيش فيه مثل المايكوبكتريا Mycobacteria والميكروكوكاي Micrococci تسمى هذه الاحياء بالهوائية المضطرة Obligate Aerobes ان هذه الاحياء التي تحتاج الى الاوكسجين للتنفس يمكن ان تتأثر بتراكيز عالية منه ويتحدد نموها . هناك بعض الاحياء المجهرية المضطرة تستطيع العيش دون وجود هواء تسمى باللاهوائية المضطرة Obligate Anaerobes مثل الكلوستريديا Clostridia التي تنمو فقط عندما لايوجد اوكسجين ، ان هذه الاحياء تنمو بجهد كهربائي Potential واطيء في الاكسدة والاختزال وان الاوكسجين الجزيئي يمنع الوصول الى هذه الدرجة من الجهد ، بين هاتين الحالتين

يوجد الكثير من الاحياء الذين يستطيعون النمو بصورة جيدة بوجود الاوكسجين او عدمه وتسمى هذه الاحياء المختارة للاوكسجين Facultative Aerobes . اما المجموعة الرابعة فهي الاحياء المجهرية التي تستطيع العيش بتراكيز واطئة من الاوكسجين الجزيئي . تسمى هذه الاحياء بالاليفة لكميات قليلة من الهواء Microaerophilic وهي لاتنمو بوجود الاوكسجين في سائل مشبع بالهواء وهي تحتاج لكميات ضئيلة من الاوكسجين .

ان الاوكسجين الجزيئي عديم الذوبان نسبيا بالماء لذلك يجب ان يوفر للكائن المجهري الذي يحتاجه بصورة مستمرة للنمو . تأخذ الاحياء المجهرية ماتحتاجه من الاوكسجين في الزرع الراكد من الوسط الزرعي وان كانت كميته قليلة مضافا الى ذلك الكميات التي تمتص في الوسط من الهواء الموجود فوق الزرع وتكون الكمية المذابة غير كافية بعد فترة من النمو لذلك يصبح الزرع لاهوائي . يمكن توفير الاوكسجين بكميات اكبر في الزرع الراكد بنفخ فقاعات هوائية فيه . كما ويمكن زيادة كمية الاوكسجين المذاب في الوسط الزرعي بخفض درجة حرارة الحضانة . ان هذه الظاهرة تفسر الحصول على حاصل اكبر من الاعداد عند تنميته بدرجات حرارية واطئة اكثر مما لو تمت تنميته في درجات اعلى رغم ان سرعة النمو بالدرجات الاعلى تكون اكبر .

٥ ــ الماء :

تحتاج الاحياء المجهرية لنموها وتكاثرها الى كميات كبيرة من الماء في محيطها وذلك لأن جميع التفاعلات الكيميائية التي تحصل في هذه الاحياء تكون بحاجة الى محيط مائي وان الماء يشكل ٨٠٪ الى ٩٠٪ من وزنها . ان البكتريا تحتاج عادة الى كميات اكبر من الماء في محيطها مقارنة بالفطريات التي تعيش في محيط جاف (ارضي) Terrestrial . لذلك تعتبر البكتريا مائية المعيشة ان الماء يجب ان يكون في حالته السائلة ليساعد على دخول وخروج المواد من والى الخلية . كذلك يكون بمثابة مادة متفاعلة في اغلب التفاعلات الحيوية وكمادة رئيسة من مكونات البروتوبلازم وبما ان الماء يجب ان يكون بالحالة السائلة لذا يجب ان تكون الدرجات الحرارية التي تجرى فيها التفاعلات والتي تدعى المنطقة الحركية الحياتية Biokinetic متراوحة بين ٢ م ــ ١٠٠ م . ان كميات الماء التي تحتاجها الاحياء المجهرية لايمكن توفرها من الماء الناتج من التفاعلات الحيوية في تلك الكائنات لذلك يجب ان تتوفر في محيطها وان الحاجة الى الماء في المحيط الذي تنمو فيه هذه الاحياء المجهرية كان معروفا منذ القدم ولقد استعمل التجفيف لمنع تلف المواد وتحللها . ان الماء المتوفر في الوسط الزرعي لايكون كله حرا حيث ان بعض

جزيئات الماء تكون متحدة مع جزيئات المواد المذابة فيه مما ينتج عن ضغط بخار اوطأ للمحاليل من ضغط بخار الماء .

من الممكن تقدير كمية الماء التي تحتاجها الاحياء المجهرية بشكل فعالية الماء والتي يرمز لها بـ (a_w) للمحيط او للوسط وهي تساوي النسبة بين ضغط بخار المحلول (P) الى ضغط بخار الماء (P_o) كما في المعادلة التالية : ـ

$$a_w = \frac{P}{P_o}$$

ان فعالية ماء الوسط يمكن قياسها بسهولة بواسطة تجربة تجري في اناء مغلق وذلك بتسجيل رطوبة الجو في درجة حرارة الحاضنة عند التعادل Equilibrium ان قيمة a_w للماء تساوي واحد وتقل هذه القيمة عند اذابة مواد في الماء وان الاحياء المجهرية تتمكن من النمو في اوساط زرعية لها قيم a_w تتراوح بين ٦٣,. ـ ٩٩,. وان هذه الحدود تكون ثابتة لكل نوع من الاحياء المجهرية وهي لاتتأثر بطبيعة المادة المذابة في الوسط ان الاحياء التي تستطيع النمو في حدود واطئة اودنيا من a_w تسمى زيروفيليك Xerophilic وان النمو في هذه الحدود يزيد من طور التأخر او التطبع ويقلل من سرعة الانقسام مما يؤدي الى قلة في الاعداد بالمزارع .

ان a_w الفضلى للخمائر هي اقل من البكتريا ولكن الدرجة الدنيا لها تساوي ٠,٨٨ ـ ٠,٩١ ولكن هناك بعض الخمائر مثل سكارومايسس روكساي Saccnaromyces rouxii تتمكن من العيش في اوساط لها a_w مساوية الى ٠,٧٣ وهده الخمائر تعرف بالاسموفيليك osmophilic لتفسير هذه الظاهرة يعتقد ان كمية الكليسرول والارابيتول تمكن هذه الخمائر من العيش في الاوساط الزرعية الحاوية على فعاليات قليلة للماء .

ان الحدود القصوى لـ a_w تمثل اقل حاجة من مجموع تركيز المذاب للنمو وذلك لأننا كلما خففنا الاوساط الزرعية للحصول على a_w عالية كلما قلت نسبة المذاب في الوسط وكلما اقتربنا من الحدود القصو ى لـ a_w

الضوء :

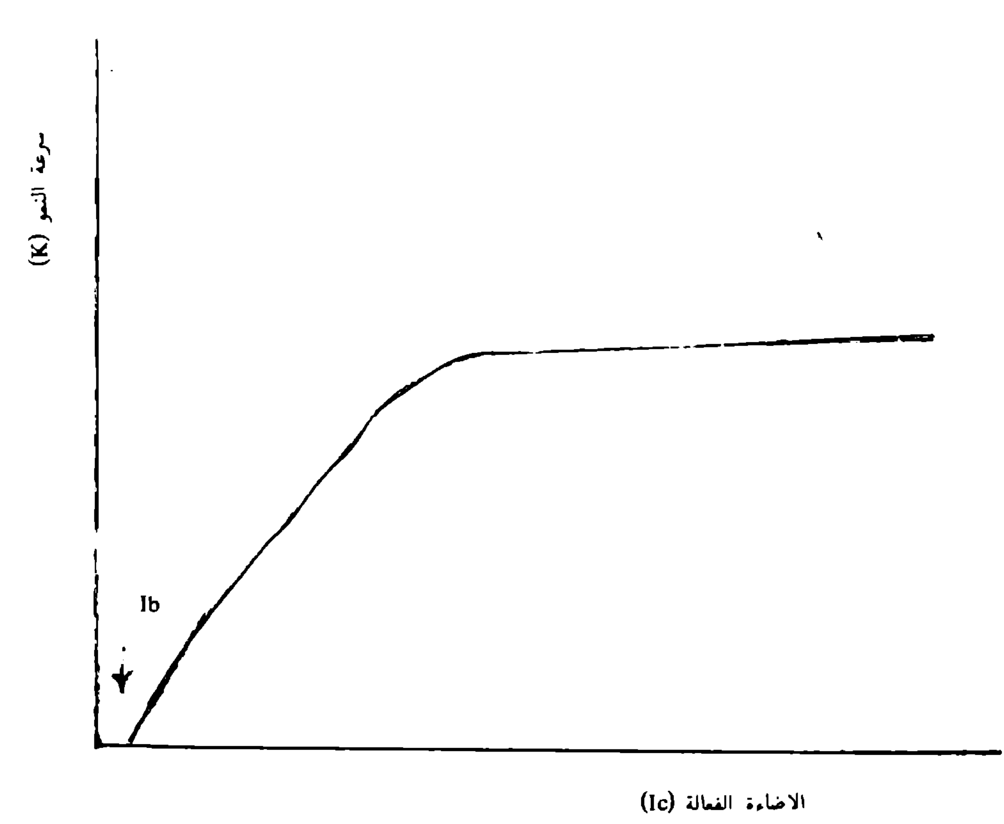
ان القدرة على الاستفادة من الطاقة الضوئية المرئية تقتصر على الاحياء المجهرية التي تمتلك الصبغات . وتسمى هذه الاحياء بضوئية التغذية Phototrophs لتفريقها عن مجموعة اخرى من الاحياء التي تستمد طاقتها من تفاعلات كمياوية تجري في الظلام . ولكي يستفاد من هذه الطاقة يجب ان يمتص الضوء من قبل تلك الاحياء فالاجزاء التي لها القدرة على امتصاص الضوء تسمى بمستلمات الضوء

Photoreceptors وهي صبغات من الكلوروفيل Chlorophyll والكاروتينويد Carotenoid والبليبروتين Biliprotein توجد هذه الصبغات في الاحياء الجهرية الملونة او المصبغة اما الاحياء غير الملونة فيمكنها امتصاص الضوء عند تلوينها بالصبغات المختلفة . ولقد لوحظ في هذه الاحياء التي يتم تلوينها بالصبغات ازدياد عدد الطفرات فيها بعد التلوين وذلك لامتصاصها امواجا ضوئية معينة . ان لكل صبغة من هذه الصبغات امواجا ضوئية معينة تمتصها فالكائن الجهري الحامل لصبغة معينة يتأثر فقط بتلك الامواج فمثلا وجد ان في البكتريا المتحركة رودوسبيريلم ربرم **Rhodospirillum rubrum** والتي تمتلك صبغتي الكوروفيل والكاروتينود تتجمع عند تعرضها للضوء في مناطق معينة من الطيف وهي المناطق التي تكون فيها الامواج الضوئية ٨٠٠ ـ ٩٠٠ نانوميتر و ٥٩٠ نانوميتر و ٤٧٠ ـ ٥٣٠ نانومتر وهي الامواج التي تمتصها هاتان الصبغتان بدرجة قصوى . اما في الطحالب فلقد وجد ان الطيف الذي تمتصه بواسطة صبغة الكلوروفيل ذي موجة اقصر من الكلوروفيل للبكتريا ويقع ضمن الموجة ٦٥٠ ـ ٧٠٠ نانوميتر .

ان اهم الفعاليات الحيوية التي تتأثر بالضوء هي عملية التخليق الضوئي Photosynthesis والتي ستبحث في الفصل الخامس .

ان من الفعاليات الحيوية الاخرى التي تتأثر بالضوء سلبا او ايجابا هي سرعة النمو فلقد وجد في الطحالب ان شكل منحني النمو يعتمد على الاضاءة ، ففي الزرع الراكد مثلا وبعد فترة من النمو اي عندما تزداد كثافة الخلايا تصبح الاضاءة الفعالة للخلية الواحدة (I_e) اقل من الاضاءة الساقطة (I_o) عندئذ تتأثر سرعة النمو (K) بكمية الضوء بالنسبة للخلية الواحدة كما يتضح من الشكل ٢٢)

عند الرجوع الى منحني النمو الطبيعي للزرع الراكد وعندما تكون كثافة الخلايا واطئة وكمية الظل قليلة يكون ازدياد الاعداد بصورة لوغاريتمية وتكون سرعة النمو (K) ثابتة واذا ازدادت اعداد الخلايا ووجود اضاءة ساقطة عالية فسوف يستمر هذا الطور اللوغاريتمي مادامت الخلايا دون الاشباع بالضوء الساقط وكلما ازدادت الاعداد بدرجة اكبر كلما اقتربت كمية الضوء الممتص من الاشباع ١٠٠ ٪ عند ذاك تصبح علاقة كمية الزرع بالنسبة للضوء علاقة الخط المستقيم Linear وبمعنى آخر تصبح سرعة ازدياد الاعداد بالنسبة للوقت ($\frac{dN}{dt}$) ثابتة ، حيث تمثل (N) كمية الزرع و (t) الزمن . ان اي ازدياد في كمية الزرع يسبب ازدياد الحاجة للفعاليات الحيوية الداخلية Endgenous او القاعدية (Basal) . ان الاضاءة الفعالة (I_e) وبعد ازدياد كمية الزرع بصورة اكبر ستقترب



الشكل (٢٢)
يوضح العلاقة بين سرعة النمو وكمية الضوء

من قيمة الاضاءة المطلوبة للفعاليات الحيوية الداخلية (القاعدة) والتي يرمز لها بـ (I_b) وتقترب الخلايا في الزرع من الكمية القصوى التي يمكن ان يصل اليها الزرع .

ان حاصل الزرع (Yield) يمثل اقصى كمية للزرع تحت ظروف معينة . يعتمد هذا الحاصل بالنسبة للطحالب عند توفر كمية كافية من ثاني أوكسيد الكربون والمواد الغذائية والحرارة على كمية الاضاءة وشكل الوعاء . وللحصول على حاصل اوفر تنمى الخلايا بطبقات رقيقة في قناني مسطحة وتعرض للضوء العمودي .

في الطحالب الضوئية العضوية التغذية وعند توفر المواد المغذية المناسبة تزداد كمية الزرع عند تعرضه لضوء ذي شدة مناسبة حتى وان كانت قليلة ومعتمة كما هو موجود في الطحلب كروميولينا Chromulina . وقد يحدث الضوء تأثيرا عكسيا لنمو الطحالب الضوئية سواء كانت ذاتية التغذية او عضويتها ، حيث انه وجد بأن الامواج الضوئية القصيرة تؤثر على النمو عند تعرض الزرع لضوء شدته اكثر من الشدة الضوئية الفضلى . لايتأثر نمو الطحالب الضوئية ذاتية التغذية او عضويتها فقط بالضوء بل تتأثر ايضا كمية النواتج الكربونية التي تفرز الى خارج الخلية بشدة الضوء حيث تبلغ هذه الافرازات كميتها القصوى عندما تكون شدة الضوء مثبطة لعملية التخليق الضوئي وتقل كمية الافرازات عند ازدياد شدة الضوء . من الطبيعي ايضا ان تتأثر افرازات هذه المواد بنوعية الطيف فلقد وجد مثلا ان كمية الكلايكوليت المطروحه خلال عملية التخليق الضوئي بواسطة الطحلب كلوريلا **Chlorella** يزداد بالضوء الاحمر ويثبط باللون الازرق . اما في الفطريات فأن الكثير منها تتأثر بالضوء حيث يؤثر على تراكيبها الخضرية والتناسلية مثل الهيفات وحاملات السبورات Sporangiophores او على تكوين مركب معين او على سرعة او اتجاه الحركة فيها Phototaxis او على نموها Phototropism ففي الفطر بلاستوكلاديلا ايمرسوني **Blastocladiella emersonii** وجد ان الوزن الجاف للاوراق (Thalli) في المزارع النامية في ضوء كثافته ٦٠ ــ ٨٠ قدم/ شمعة وفي وسط معقد التركيب ١٤١٪ من الزرع النامي في الظلام . اما في الاوساط الصناعية فأن مقدار تأثر هذا الفطر بالضوء يعتمد على تركيب الوسط .

وكما هو موجود في الطحالب من تأثيرها السلبي للضوء يكون ذلك ايضا في الفطريات فلقد وجد في الفطر بيلوبولس كلايني **Pilobolus Kleinii** اعاقة للضوء لاستطالة الهيفات وان هذا التأثير يعتمد على الوسط الزرعي ، وان المايسيلم الذي يتوقف نموه عند تعرضه للضوء يستعيد هذا النمو عند نقله للظلام . ولكن فيما اذا استعاد المايسيلم نموه في الظلام فأنه لايسترجع نشاطه الذي كان عنده قبل تعرضه للضوء اما التراكيب التناسلية فقد تتأثر سلبيا وتنمو ببطىء عند تعرضها للضوء لقد وجد في الفطر ثامنيديوم ايليكانس **Thammnidium elegans** ان

حاملة السبورات تنمو ببطء عند تعرضها للضوء وان حديثة التكوين منها تتأثر بصورة اكثر من البالغة . عند تعرض الفطر الى ضوء غير متجانس Assymmetrical. تتأثر التراكيب التناسلية اكثر من التراكيب الخضرية ، حيث لوحظ في سبع انواع من الفطر بوسينيا Puccinia ان الهيفات تنحني بعيدا بالاتجاه المعاكس للضوء ، وهناك بعض انواع الجنس لاتتأثر بالضوء .

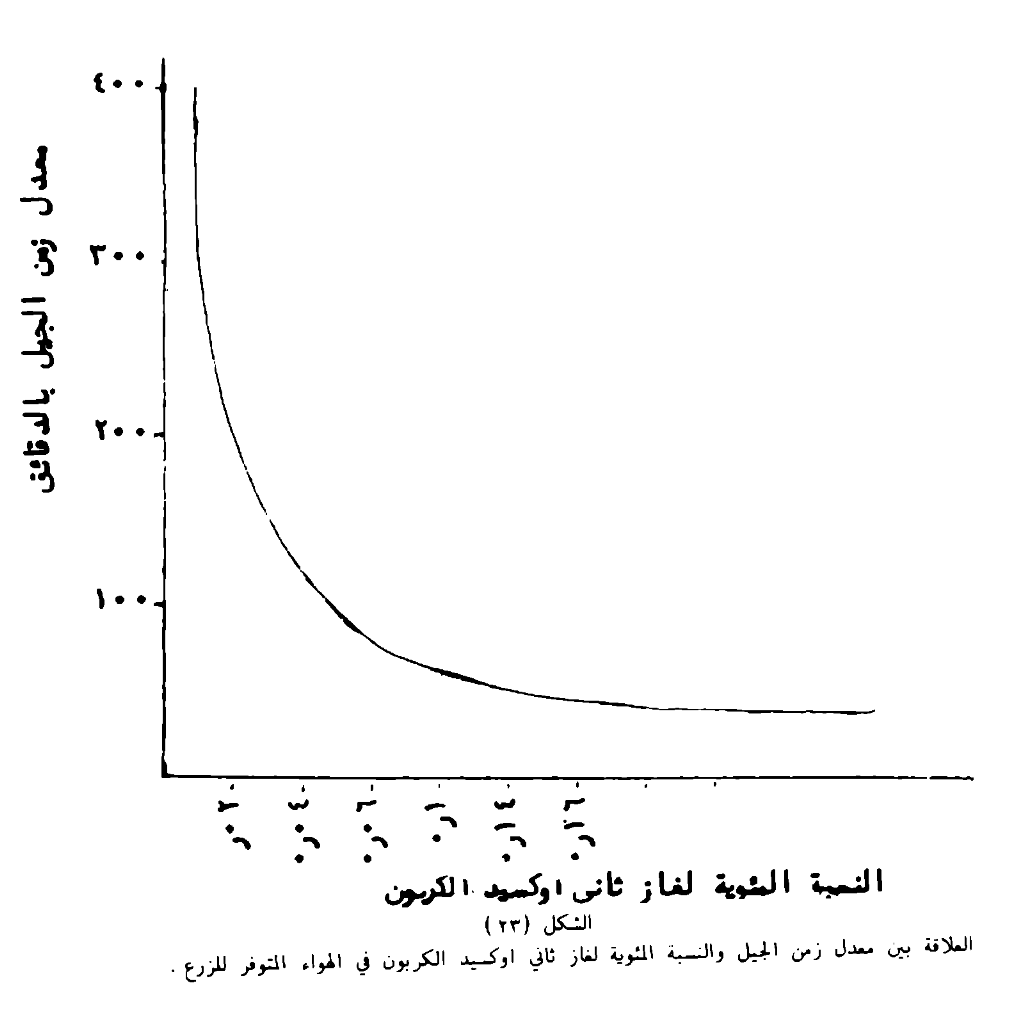
٧ ـ ثاني اوكسيد الكربون :

ان قابلية الاستفادة من ثاني اوكسيد الكربون كمصدر وحيد للكربون هي من احدى صفات الاحياء المجهرية الذاتية التغذية . والطريقة الرئيسة التي يتم فيها تثبيت هذا الكربون وتحويله الى كربون عضوي هو من خلال دورة ايضية تسمى دورة كالفن (Calvin Cycle) والتي يتم عن طريقها تحويل ثاني اوكسيد الكاربون الى سكر سداسي وسيتم بحث هذه الدورة بصورة مفصلة في الفصل الخامس .

ان الاستفادة من ثاني اوكسيد الكربون لايقتصر على الاحياء الذاتية التغذية بل يتعداها الى الاحياء العضوية التغذية ، فالبعض من هذه الاحياء تعتمد على ثاني اوكسيد الكربون لتوفير ٣٠٪ منه مثل بكتريا حامض البروبيونيك (Propionic Acid Bacteria) . ومهما كانت الكمية التي يحتاجها الكائن المجهري من غاز ثاني اوكسيد الكربون ضئيلة فمن الضروري توفير هذا الغاز عند نقل الزرع الى وسط جديد وتستعمل لهذا الغرض حاضنات تسمى كابنيك (Capneic) لتوفير غاز ثاني اوكسيد الكربون . ان سرعة نمو الاحياء تتأثر بمدى واطيء من تركيز هذا الغاز كما مبين في الشكل (٢٣)

٨ ـ الضغط :

ان تأثير الضغط على الاحياء المجهرية متنوع ، فمثلا هناك ضغط حرج لانبات السبورات وان الضغط يغير من لزوجة ومطاطية بروتوبلازم الخلية وتحلل (Solvation) الجزيئات الكبيرة كما يؤثر على فعالية الانزيمات . ان جميع هذه التأثيرات لابد وان تؤدي الى تغير في سرعة الفعاليات الحيوية التي تقوم بها الخلية . ان العديد من الاحياء المجهرية تعيش وتتكاثر في اجواء ذات ضغوط جوية اعتيادية فمن الطبيعي ان يتأثر نمو هذه الاحياء بالضغوط الجوية العالية مثل ٢٠٠ ـ ٦٠٠ مرة من الضغط الجوي وربما تؤدي هذه الضغوط الى موتها ولكن يوجد عدد كبير من الاحياء المجهرية التي تستطيع النمو في المحيطات تحت تأثير ضغط عال ٣٠٠ ـ ٤٠٠ وقد يصل ٦٠٠ ضغط جوي . ان هذه الاحياء الاليفة للضغوط الجوية العالية تسمى باروفيليك (Barophilic) .



الشكل (٢٣)

العلاقة بين معدل زمن الجيل والنسبة المئوية لغاز ثاني اوكسيد الكربون في الهواء المتوفر للزرع .

ان تأثر الضغط على نمو الاحياء المجهرية لابد وان يكون عكس تأثير الحرارة عليه . ان هذه العلاقة تفسر قدرة نمو الاحياء الاليفة للضغوط بدرجات اعلى من ٧٠ م عند تعرضها لضغوط عالية .

ان احد تأثيرات الضغط المعتدل هو اطالة طور التطبع ، كما وان انقسام الخلايا يتأثر بالضغوط المائية (Hydrostatic) العالية ولقد شوهد تكون خيوط طويلة من قبل الاحياء الوحيدة الخلية عند نموها بضغوط متزايدة ، كما وينخفض تحرر الطاقة في المايتوكوندريا للفطر الومايسس ماكروجينس **Allomyces macrogynes** عند تعرضها الى ضغوط مائية .

الفصل الرابع

متطلبات التغذية

تعرف المغذيات (Nutrients) بأنها المركبات التي يجب ان يحصل عليها الكائن المجهري من المحيط لتسد حاجته في بناء تراكيبه وللحصول على الطاقة . ولقد درست حاجة العديد من الاحياء المجهرية كالطحالب والفطريات والبدائيات والبكتريا لبناء تراكيب الخلية من هذه المغذيات وتمت معرفة طبيعتها كمصادر للكربون والهيدروجين والاوكسجين والنتروجين والفسفور والكبريت اما حاجة الاحياء المجهرية الطفيلية المعيشة لهذه العناصر فتجرى دراستها الآن .

ان التعرف على حاجة الطفيليات لهذه العناصر تأتي من صعوبة تنميتها على الاوساط الزرعية الصناعية . هناك عاملان يجب معرفتها كي تعرف حاجة الكائن المجهري لمادة كيميائية معينة كغذاء وان احد هذين العاملين هو معرفة قدرة دخول المركب عبر الغشاء السايتوبلازمي لاسيا وان هناك نوعا من الانتخاب في دخول بعض المركبات . ان هذا الانتخاب او الاختيارية يقع بوجود بعض الانزيمات التي تدعى بالناقلة (Permeases) وهذه تسهل دخول تلك المركبات عبر الغشاء السايتوبلازمي . ان الحجم والوزن الجزيئي للمركب يشكل عاملا مهماً وذلك لقدرته على دخول الغشاء السايتوبلازمي كما وجد في بعض الاحياء المجهرية بعدم سماحها للاحماض العضوية الخاصة بدورة الاحماض ثلاثية الكربوكسيل : (Tricarboxylic Acid Cycle) ولكنها تسمح بمرور السكريات وهذا لايعني ان جميع المركبات ذات الاوزان الجزيئية العالية لاتدخل خلال الغشاء السايتوبلازمي فلقد وجد ان لبعض الاحياء القدرة على افراز انزيمات الى خارج خلاياها لهظم وتحليل هذه المركبات لغرض استخدام اجزائها المتحللة كمواد غذائية كما يحدث في تحليل بعض المواد الكربوهيدراتية الى سكريات بسيطة والبروتينية الى ببتيدات متعددة والدهنيات الى احماض دهنية وكليسرول . العامل الثاني هو قدرة الكائن المجهري على استخدام هذه المادة كمصدر للطاقة او كوحدة بنائية وذلك لامتلاكه للاجهزة الانزيمة المتخصصة بهذه الفعاليات الحيوية . ان البعض من هذه الانزيمات تتكون بوجود هذه المواد داخل الخلية .

١ ـ مصدر الكربون

ان المصادر الكربونية الموجودة في الطبيعة تستغل من قبل الاحياء للحصول على وحدات بنائية او كمصادر للطاقة فالاحياء المجهرية التي لها القدرة على التخليق والبكتريا التي لها القدرة على اكسدة المواد غير العضوية للحصول على الطاقة تستعمل ثاني اوكسيد الكربون كمصدر وحيد او رئيس للكربون . ان الكربون في هذا الغاز يكون على درجة عالية من الاكسدة لذلك يجب اختزاله للاستفادة منه كوخدة بنائية . ان عملية الاختزال هذه تحتاج الى طاقة وهذه الطاقة تأتي من الضوء او من اكسدة المركب غير العضوي . ففي البكتريا مثلا يستفاد من ثاني اوكسيد الكربون كوحدات بنائية ليس باتحاد جزيئين منه لتكوين مركب ثنائي الكربون ، كما وان الغاز لايختزل الى حامض الفورميك او الفورمالدهايد ولكن يستفاد من ثاني اوكسيد الكربون على الشكل التالي

$$CO_2 + CH_3 - \overset{O}{\overset{\|}{C}} - COO^- + H + H_2O \rightleftharpoons {}^-OOC - CH_2CHOHCOO^- + H_3O^+$$

تمثل 2H عاملا مختزلا في هذه المعادلة ويجب توفر طاقة لهذا التفاعل وهذه تتوفر من تفاعلات اخرى في بعض الانواع الاخرى من البكتريا يستخدم ثاني اوكسيد الكربون كمستلم للالكترونات ويتم تحويله الى وحدات بنائية كما هو الحال في البكتريا كلوستريديوم اسيتيكي **Clostridium aceticuus**

$$4\ H_2 + 2\ CO_2 \text{———} CH_3COOH + 2H_2O + \text{طاقة}$$

والبكتريا زوائف ميثانيكة **Pseudomonas methanica**

$$4H_2 + CO_2 \text{———} CH_4 + 2\ H_2O + \text{طاقة}$$

ان الطاقة المتحررة في هذين التفاعلين تأتي نتيجة لاكسدة غاز الهيدروجين اما ثاني اوكسيد الكربون فيختزل ويحول الى وحدات بنائية .

اما في الطحالب المضطرة للتغذية الضوئية الذاتية فلقد وجد ان ثاني اوكسيد الكربون يشكل المصدر الوحيد للكربون وتتم عملية تثبيت هذا الغاز خلال اختزاله بدورة معينة تعرف بدورة كالفن Calvin Cycle وهنا ايضاً تستمد الطاقة بعملية اختزال ثاني اوكسيد الكربون من الضوء او من اكسدة مركب غير عضوي . وبما ان معظم الطحالب مائية المعيشة لذلك فانها تتعرض لحامض الكربونيك وايوناته مثل HCO_3^- وايون $CO_3^=$ وكذلك لغاز ثاني اوكسيد الكربون

المذاب في الماء (يوجد هذا الغاز بالماء المتعادل مع الهواء بنسبة ١٠ مايكرومول بدرجة حرارة ١٥° م) . واذا دخل هذا الكربون غير العضوي على شكل ايون HCO_3 مثلا فانه يجب ان يتحول الى ثاني اوكسيد الكربون قبل ان تستفيد منه الخلية بعملية التخليق الضوئي .

الاحياء الاخرى تحصل على الكربون من مصادر عضوية وتعتمد على ثاني اوكسيد الكربون كمصدر مساعد لتغذيتها . لهذه المركبات العضوية غرضان ايضاً اولهما الحصول على وحدات بنائية وثانيهما الحصول على الطاقة . والعديد من هذه الاحياء تستخدم مركباً واحداً لهذين الغرضين وقسم من هذه الاحياء لاتستطيع استخدام مركب بل تحتاج الى اكثر من مركب عضوي . ونظراً لأن هذه المركبات العضوية هي على نفس المستوى من الاكسدة كباقي مكونات الخلية فانها لاتحتاج ان تختزل كي يستفاد منها كوحدات بنائية . اما من ناحية الطاقة فان معظم الكربون الموجود في هذه المركبات يدخل في الفعاليات الحيوية المحررة للطاقة ولذلك يخرج من الخلية على شكل غاز ثاني اوكسيد الكربون وهو الناتج الاكبر لتحرير الطاقة من التنفس او على شكل ثاني اوكسيد الكربون ومركب عضوي آخر كما يحدث في عمليات التخمر .

ان المصادر الكربونية لعضوية التغذية كثيرة ومتعددة حيث يمكننا القول بأن كل مركب كربوني موجود في الطبيعة له كائن مجهري يستطيع استخدامه كمصدر غذائي ويوجد احياناً بعض التــخصص بين العتر (Strains) المعينة واستغلال مصدر كربوني معين . وتستخدم هذه القدرة للاحياء المجهرية في تحلل واستخدام المصادر الكربونية المعينة كوسيلة لتصنيفها كما هو الحال في استخدام تخمر السكريات كاختبار تصنيفي للاحياء المجهرية .

ان المواد الكربوهيدراتيه تشكل مصدراً عاما للكربون مثل سكر الكلوكوز فهو يستغل من قبل الفطريات اكثر من اي سكر اخر ويعتبر مصدراً كربونياً عاماً بالنسبة لها ، لذلك عند تنمية فطريات غير مدروسة يضاف سكر الكلوكوز الى الوسط الزرعي وهناك بعض الفطريات التي ليست لديها القدرة على استغلال الكلوكوز مثل الفطر لبتوميتس لاكتيس **Leptomitus lacteus** ان هذا الفطر لايستغل السكريات الاخرى ايضاً مثل سكر الفركتوز والغالاغتوز او السكروز. من المصادر الكربونية الاخرى التي تستغل من قبل الاحياء المجهرية السكر الخماسي زايلوز حيث يستخدم بصورة واسعة . اما الكحولات المتعددة الماء (Polyhydric) فيمكن استخدامها كمصدر كربوني من قبل العديد من الفطريات والاكيتنومايستات ولكنها نادراً ماتستعمل من الخمائر والفابكومايستات .

ان البروث المغذي الذي يدخل كاحد مكونات معظم الاوساط الزرعية يوفر الاحماض الامينية التي تستغل من قبل الاحياء المجهرية كمصادر كربونية اخرى

اما المواد القليلة الذوبان بالماء كالدهون فانها لاتستغل كثيراً كمصادر كربونية وربما يعود ذلك الى هذه الصفة ويمكن استغلال الدهنيات بعد تحللها في الوسط الزرعي وذلك اذا استطاعت الاحياء افراز انزيمات خاصة بذلك . وبعد عملية التحلل يستخدم الكليسرول او الاحماض الدهنية الناتجة او كليهما كمصادر كربونية .

ان بعض السوطيات -والتي تسمى سوطيات الخل Acetate Flagellates تنمو بالتغذي على مادة الخلات والاحماض العضوية الاخرى . اما المصادر الهيدروكربونية فهي تستغل من قبل فئة محدودة من الاحياء الجهرية مثل الوتديات Corynebactria ومايكوباكتيريوم Mycobacteria_ والزوائف Pseudomonas اما المركبات الكربونية العطرية Aromatic فتستغل من قبل الزوائف بصورة خاصة تحت ظروف هوائية . ان المواد التي تستغل كمصادر كربونية عضوية يجب ان تدخل الخلية عبر الغشاء السايتوبلازمي فمثلا ان الاحماض العضوية خاصة احماض الكيتو لاتستغل كمصادر كربونية لكونها لاتمر عبر هذا الغشاء .

ان بعض الاحماض العضوية لها القدرة على العمل الخلبي Chelating للايونات السالبة مما يؤدي الى نقصان هذه الايونات في الوسط وبالتالي يسبب تأثيراً على نمو الاحياء عند وجود هذه الاحماض .

٢ ـ النتروجين

يدخل النتروجين في تراكيب متعددة لاجزاء الخلية لذلك يجب ان يتوفر في البيئة مصدر حاوٍ على النتروجين تتمكن الاحياء الجهرية من استغلاله ، وتلعب هذه المصادر دوراً مهما لتوفير هذا العنصر لاستخدامه في الوحدات البنائية اكثر من الدور الذي تلعبه كمصادر للطاقة ويدخل النتروجين في تركيب الاحماض الامينية والبروتين والنيوكليوتايد وبعض الفيتامينات . ان مصادر النتروجين تكون عضوية او غير عضوية فالمصادر العضوية هي املاح النترات والامونيا اما املاح النيتريت فقد تكون مصدراً للنتروجين ولكن بشكل مخفف جداً حيث وجد ان استعمالها بصورة مركزة يكون سمياً على البروتين والاحماض الامينية . ان النتروجين العضوي في الخلية يكون في مجموعة الامينو وبشكل مختزل ، لذلك وعند توفر النيتروجين وهو في حالة اكسدة يجب اختزاله لتستفيد منه الخلية في البناء . ان حالة الاكسدة والاختزال Oxidation Reduction لذرة النتروجين الموجودة في النترات (No_3) هي (+ 5) وفي الامونيوم (NH_4^+) هي (– 3) وهناك ثلاثة حالات وسطية بين النترات والامونيوم وهي حالات اختزال تكون باضافة الكترونين في كل حالة وكالاتي :

$$\overset{+5}{NO_3^-} \longrightarrow \overset{+3}{NO_2^-} \longrightarrow \overset{+1}{N_2O} \longrightarrow \overset{-1}{NH_2OH} \longrightarrow \overset{-3}{NH_4^+}$$

nitrate　nitrite　hyponitrite hydroxylamine

ان شكل النتروجين في ايون الامونيوم هو المفضل لان هذا الشكل هو الذي يدخل في تركيب المواد العضوية في الخلية . اما النترات (NO_3^-) فيمكن استخدامها من قبل العديد من الطحالب والفطريات وبدرجة اقل من قبل البكتريا والخمائر . ان اختزال النترات الى امونيا في الطحالب يكون بمساعدة انزيمين الاول هو مختزل للنترات Nitrate Reductase الذي يختزل النترات الى نيترايت (NO_2^-) والثاني مؤكسد ومختزل للنترايت Nitrite Oxidoreductase والذي يساعد على اختزال النيترايت الى امونيا . ان النتروجين غير العضوي وبشكل امونيا يتحول الى نتروجين عضوي بالطرق التالية : ــ

١ ــ تأمين Amination الاحماض الحاوية على مجموعة الكيتو Keto Acids) بواسطة الامونيا وتحويلها الى احماض امينية .

٢ ــ تأمين الاحماض الامينية الى اميدات (Amides) .

٣ ــ اتحاد الامونيوم مع ثاني اوكسيد الكربون والادينوسين ثلاثية الفوسفات (ATP) لتكوين فوسفـــات الكـــاربومويـــل Carbomoyl Phosphates وكالآتي : ــ

$$NH_4^+ + CO_2 \rightleftharpoons H_2N - \overset{O}{\overset{\|}{C}} - O^- + H_2$$

$$\updownarrow \; ATP \rightarrow ADP$$

$$H_2N - \underset{O}{\underset{\|}{C}} - O\,PO_3^=$$ فوسفات كاربومويل

اما الاستفادة من النتروجين الجوي N_2 (حالة الاكسدة صفر) او مايدعي بعملية تثبت النتروجين والتي يختزل فيها النتروجين الجوي الى امونيا وهذا يقتصر على الاحياء البدائية النواة Prokaryotes مثل بعض الانواع البكتيرية الحرة المعيشة وانواع اخرى رمية والطحالب الزرقاء المخضرة والتي ستبحث في الفصل السابع .

عند تحضير الاوساط الزرعية يوفر عنصر النتروجين عادة بشكل املاح الامونيا لانها توفر النتروجين بشكله المختزل وخاصة بالنسبة للاحياء التي لاتستطيع

اختزال ايون النترات ، ويمكن ايضاً استخدام النترات ولكنها لاتفضل على املاح الامونيا حيث وجد في الطحالب وعند توفر الملحين في الوسط الزرعي انها تستخدم املاح الامونيا اولا ثم املاح النترات ، رغم ان سرعة النمو في الاثنين واحدة . اما في الطبيعة فان املاح الامونيا موجودة في التربة بشكل مؤقت وانتقالي . ان قسماً من هذه الاملاح يتحول الى نيترايت بواسطة البكتريا نيتروسوموناس Nitrosomonas او نيتروكوكس Nitrococcus وهذه الاملاح تتأكسد ثانية الى نترات بواسطة انواع من الجنس Nitrobcter . ان عملية اكسدة النيترايت الى نترات تكون سريعة لذلك تكون كمية النترايت في التربة قليلة عدا الحالة التي تكون فيها كمية الماء عالية وكمية الاوكسجين قليلة . ان اهم المصادر العضوية للنتروجين هي المواد البروتينية ونواتج تحللها : ـ

حوامض امينية ببتايدات ببتونات بروتيوس ميتابروتين بروتين

Protein-Metaprotein-Proteose-Peptones ⟶ Peptides- Amino Acids

ان المصادر النتروجينية اضافة الى انها توفر عنصر النتروجين فانها تكون مصادر طاقة ايضاً . فالاحياء المجهرية التي لديها القدرة على تحليل هذه المركبات العضوية تستفيد منها كمصادر للنتروجين ومصادر للطاقة مثل البكتريا كلوستريديوم بروبيونيكم **Clostridium propionicum** والتي لها القدرة على تخمير الحامض الاميني الانين Alanine محررة بذلك ايون الامونيوم الذي تستخدمه في عمليات تأمين احماض كيتو وطاقة تحتاجها للنمو . الاحماض الامينية التي لاتدخل مباشرة في تكوين البروتين تدخل بعملية ازالة ايون الامونيوم منها Deamination وهذا الايون يستغل لبناء الكربون العضوي في الخلية ففي البكتريا برتيوس فولكارس **Proteus vulgaris** تتحرر الامونيا بعملية اكسدة الاحماض الامينية من دون ان تتحرر طاقة كما يلي

$$R - \underset{\displaystyle NH_3}{\underset{|}{CH}} - COO + \text{——} O_2 \text{————} R - \underset{\displaystyle O}{\underset{\|}{C}} - COO + NH_4^+$$

حامض اميني بشكل عام

توجد مصادر عضوية اخرى للنتروجين وتستخدم من قبل الاحياء المجهرية مثل اليوريا وحامض اليوريك والاميدات Aliphatic Amides وتستعمل الاخيرة كاحدى وسائل التصنيف اما البيورين والبرمدين فهما نادراً مايستعملان كمصادر للنتروجين .

٣ ـ الفسفور

ان هذا العنصر ضروري لجميع اشكال الحياة حيث انه يدخل في تراكيب مختلفة في الخلية مثل الحامضين النووين (الرايبوزي) و (الرايبوزي اللاوكسجيني) (DNA, RNA) وفي الادينوسين الثلاثية الفوسفات (ATP) وفي الدهنيات الفوسفورية Phospholipids مرافقات الانزيمات Coenzymes فهو يلعب دورا مهما في الفعاليات الايضية Metabolism للخلية وتبادل الطاقة فيها وذلك تحت ظروف هوائية او لاهوائية. ويستخدم هذا المعدن بشكله غير العضوي كاملاح الفوسفات المعدنية في الاوساط الزرعية المصنعة، اما في الاوساط الزرعية الطبيعية فتكون الاحماض النووية الموجودة في مكونات هذه الاوساط مصدراً رئيساً للفوسفور ان املاح الفوسفات المعدنية في الاوساط المصنعة تعمل على تنظيم الرقم الهيدروجيني فيها بالاضافة الى انها مصادر للفوسفور. ان ملحي الفوسفور الاكثر استعمالا في هذه الاوساط هما الفوسفات احادية الهيدروجين (K_2HPO_4) وثنائية الهيدروجين (KH_2PO_4). ان ملح الفوسفات الثنائي الهيدروجين هو ملح حامضي ضعيف، اما الملح الاحادي الهيدروجين فهو ملح قاعدي ضعيف. عند وجود محاليل متكافئة من هذين الملحين (Equimolar) يكون الرقم الهيدروجيني للمحلول قريبا من المتعادل، ٦،٨ فاذا اضيفت كمية معينة من حامض قوي مثل حامض الهيدروكلوريك لهذا المحلول يتحول جزء من الملح القاعدي الى ملح ضعيف الحامضية كما يلي : ـ

$$K_2HPO_4 + HCl \longrightarrow KH_2PO_4 + KCl$$

وعند اضافة قاعدة قوية مثل هيدروكسيد البوتاسيوم يحصل العكس كما يلي : ـ

$$KH_2PO_4 + KoH \longrightarrow K_2HPO_4 + H_2O$$

لذلك عند استعمال نسب معينة من هذين الملحين في الاوساط الزرعية يمكن الحصول على ارقام هيدروجينية تتراوح بين (٤،٥ ـ ٨،٠). ان عدم توفر الفوسفور بكميات كافية في الوسط الزرعي يؤثر على ناتج الزرع وسرعة النمو واطالة طور التطبع او التكيف للزرع.

٤ ـ الكبريت

يعتبر الكبريت من المعادن المهمة كالنتروجين والفوسفور فهو يدخل بتركيب البروتين في الخلية وان اهم مركب يحتوي على الكبريت في البروتين هو الحامض الاميني سيستين Cysteine يوجد الكبريت في هذا الحامض بشكل مختزل في مجموعة (SH−). يوجد الكبريت ايضاً في مركبات اخرى في الخلية مثل بعض

مرافقات الانزيمات Coenzymes مثل كوكاربوكسيلوز CoA, Cocarboxylase والفيتامينات كالثايمين Thiamine والبايوتين Biotin والحامض الاميني مثيونين Methionine وثلاثي البيتايد الكلوتاثيون Glutathione الذي يتواجد بكثرة في الخمائر . ان اصل الكبريت في هذه المركبات من كبريت الحامض الاميني سيستين Cysteine ان اوسع المصادر للكبريت في الطبيعة والاكثر انتشاراً هي الكبريتات ، ومعظم الاحياء المجهرية التي لها القدرة على التخليق الضوئي والعديد من البكتريا والفطريات التي ليست لها القدرة على التخليق الضوئي تحصل على الكبريت من ايون الكبريتات ، ولقد سميت الفطريات التي تستطيع استخدام الكبريت من الكبريتات باسم يوثايوتروبيك Euthiotropic . وبما ان هذا الايون يحتوي على الكبريت وهو بشكل عال من الاكسدة (6+) لذلك يجب اختزاله الى الحالة (SH_2-) اي بدرجة من الاختزال تساوي (2-) . ان عملية الاختزال هذه هي ليست عملية اختزال الكبريتات في بعض انواع الجنس البكتيري ديسلفوفبريو Desulfovibrio والتي تختزل الكبريتات فيها الى كبريتيد الهيدروجين وتكون الكبريتات فيها مستلم نهائي للالكترونات .

ان الحاجة الى الكبريت بشكله المختزل تكون نادرة بين الاحياء المجهرية وفي هذه الحالة يضاف الى الوسط مصدر غير عضوي مثل السلفايد Sulphide او مصدر عضوي مثل السستين Cysteine . ان العديد من الاحياء المجهرية قد تستخدم ايون الثايوسلفيت Thiosulphate ($S_2O_3^=$) كمصدر وحيد للكبريت ومن المحتمل ان يختزل من قبل الاحياء نفسها الى سلفايت Sulphite ثم الى سلفايد Sulphide . ولقد اطلق على الفطريات التي تحتاج الى كبريت مختزل اسم باراثايوتروبيك Parathiotropic وعند تحضير الاوساط الزرعية تغطي الحاجة الى الكبريت بالمغذيات العضوية مثل الاحماض الامينية او البروتين المهضوم مثل الببتون ، اما معدن الكبريت فتستخدمه مجموعة صغيرة من الاحياء المجهرية .

٥ ـ الاملاح المعدنية

تحتاج الاحياء المجهرية الى كميات قليلة من الايونات السالبة Anions والموجبة Cations لنموها وتكاثرها ، كما وجد عند تنميتها في الاوساط الزرعية الصناعية وانعدام النمو عندما تحضر تلك الاوساط دونها . ان وظيفة هذه المعادن في فعاليات الايض بصورة رئيسية هي كمنشطات للانزيمات ويمكن اضافتها للاوساط الزرعية على شكل ايونات موجبة لاملاح غير عضوية . ان الحاجة الى هذه المعادن وتراكيزها تختلف من كائن حي مجهري لآخر ، حيث انه من المعروف عنها انها قد تعوض او تتضادد Antagonize او تسرع من عمل بعضها البعض .

اذا تنافس ايونان على موقع واحد لانزيم فانها يتضادان كما هو الحال بالنسبة لايون الصوديوم (Na^+) والبوتاسيوم (K^+) فالأول يثبط نمو لاكتوبسليس كيساي **Lactobacillus casei** ولكن النمو يستعاد باضافة ايون البوتاسيوم . واذا وجد انزيم ينشط بمعادن مختلفة وما يفعله احد المعادن يمكن ان يعوضه معدن آخر كما هو موجود بالنسبة للانزيم ايسوستريت ليز Isocitrate Lyase في بكتريا للزائف ايروجينوسا **Pseudomonas aeruginosa** الذي ينشط بالمعادن مثل المغنيسيوم (Mg^{+2}) ، المنغنيز (M_n^{2+}) والحديد (F_e^{2+}) والكوبالت (Co^{+2}) .

ان الحاجة الى هذه المغذيات اللاعضوية تصنف الى صنفين الأول هو الذي تحتاجه الاحياء الجهرية بتراكيز عالية نسبيا (٠,١ مليمول او ١ مليمول) وتسمى هذه بالمعادن المغذية بكميات كبيرة Macronutrient Elements وهذه عادة تضاف للاوساط الزرعية الصناعية بشكل املاح لاعضوية وتشمل هذه المجموعة المعادن التالية : ـ

أ ـ **المغنيسيوم (Mg^{+2})** : ايون موجب ومهم في الخلية فهو عامل مرافق Cofactor للعديد من الفعاليات الانزيمية كالتي تدخل فيها (ATP) اي فعاليات الفسفرة (Phosphorlation) ووظيفة ربط الانزيم مع المادة القاعدة **Substrate** ويعمل ايضا كعامل منشط لبعض الانزيمات مثل الهيكسوكينيز **Hexokinase** ويدخل كذلك في تركيب الكلوروفيل وكذلك ينظم درجة اتحاد جزيئات الرايبوسوم لذلك فهو معدن ذو حاجة عامة بالنسبة لجميع الاحياء الجهرية .

ب ـ **الحديد (F_e^{+3})** : ايون موجب يدخل في تركيب الانزيمات المساة بالسايتوكروم Cytochrome وبعض البروتينات الهيمية وغير الهيمية Haeme or non haeme في الخلية ويعمل كمرافق Cofactor للعديد من الانزيمات ، وهو ايضا ذو حاجة عامة لجميع الاحياء الجهرية .

جـ ـ **البوتاسيوم (K^{+1})** : ان هذا الايون الموجب يعمل كمرافق لبعض الانزيمات وقد تكون الحاجة اليه عامة من قبل الاحياء الجهرية ولكن لاتوجد اثباتات مقنعة بذلك .

د ـ **المنغنيز (M_n^{+2})** : ان وظيفة هذا الايون الموجب تكون كعامل مرافق لبعض الانزيمات واحيانا يعوض عن المغنيسيوم .

هـ ـ الخارصين (Zn^{+2}) : هذا الايون الموجب يوجد كجزء لاعضوي لتركيب بعض الانزيمات مثل ديهدروجينيز الكحولية Alcohol Dehydrogenase

و ـ الكالسيوم (Ca^{+2}) : ايون موجب ومهم في الخلية وهو ايضا عامل مرافق لبعض الانزيمات مثل الانزيمات العاملة على البروتين Proteinases

ز ـ الصديوم (Na^{+}) : ان الحاجة لهذا الايون لم تتوضح بالنسبة لمعظم الاحياء المجهرية ولكن وجد ان هذا الايون مطلوب لفعالية بعض الانزيمات مثل اوكزالو استيت ديكاربوكسليز oxaloacetate Decarboxylase في بكتريا ايروباكتر ايروجينيس **Aerobacter aerogenes** وتحتاجه الطحالب الخضراء المزرقة التي لها القدرة على تثبيت النتروجين والبكتريا التي لها القدرة على التخليق الضوئي والبكتريا البحرية والبرية . ورغم ان هذه الظاهرة هي غير حدية لانه قد وجدت بعض البكتريا البرية رودوبزودومونس سفيرويدز **Rhodopseudomonas spheroides** تحتاج الى الصوديوم ولكن بكميات اقل مما تحتاجه البكتريا البحرية . توجد حاجة خاصة لهذا الايون من قبل مجموعة معينة من الاحياء تدعى الاليفة للملوحة Halophiles وتقسم هذه حسب حاجتها لتراكيز معينة من ملح كلوريد الصديوم الى ثلاثة مجموعات تسمى المجموعة الاولى بقليلة الألفة للملوحة حيث يكون نموها على افضله في اوساط حاوية على ٢٪ ـ ٥٪ وزن/ حجم من ملح الطعام وتشمل العديد من الاحياء المجهرية البحرية المعيشة . والمجموعة الثانية تسمى معتدلة الألفة للملوحة وتفضل هذه اوساطا تحوي ٥٪ ـ ١٠٪ وزن/ حجم من ملح الطعام وتشمل هذه المجموعة انواعا خاصة من الجنس اكروموباكتر Achromobacter وانواعا من الجنس بزودومونس Pseudomonas وانواعا من الجنس لاكتوباسيلس Lactobacillus وبعضا من الاحياء البدائية Protozoa . والمجموعة الثالثة وتسمى عالية الالفة للملوحة وهذه المجموعة تفضل اوساطا تحوي ٢٠٪ ـ ٣٠٪ وزن/ حجم ملح طعام وهذه المجموعة تشمل انواعا للجنس هالوبكتريوم Halobacterium وانواعا من الجنس ميكروكوكس Micrococcus وانواعا من الجنس سارسينا Sarcina والطحلب دونليلافيريديس **Dunaliella viridis** ان الاحياء المجهرية العالية الألفة للملوحة مضطرة للمعيشة الهوائية وحاوية على صبغات حمراء ـ برتقالية اللون كما وان زمن جيلها طويل نسبيا وان جدران واغشية خلاياها والرايبوسومات الموجودة فيها تحتوي على بروتين يحتاج الى نسبة عالية من الملح للمحافظة على ثباته وان البعض من هذه الاحياء تتحلل عند وضعها في محاليل قليلة التركيز Hypotonic لملح الطعام وذلك بتحلل جدرانها لأن هذا الملح يحافظ على تماسك البروتين في جدرانها . لقد وجد ان

تركيز ملح الطعام في داخل خلايا الاحياء المعتدلة والعالية الالفة للملوحة يقترب من تركيزه في الوسط الزرعي وان انزيمات الخلية قد تكيفت للفعاليات بوجود هذه الكمية من ملح الطعام اما الانزيمات الموجودة في الاحياء الجهرية القليلة الألفة للملوحة فلا تظهر فعالية فضلى بوجود ملح الطعام . هناك اثبات بأن الحاجة الى ايون الصوديوم (Na^+) بالنسبة للاحياء الجهرية الاليفة للملوحة وباقسامها الثلاث وذلك كونه يساعد على دخول المواد المذابة في المحاليل الى داخل الخلية .

جـ ـ الكلور (Cl^-): ايون سالب غالبا ماتحتاجه الاحياء الجهرية الاليفة للملوحة .

الصنف الثاني من المعادن غير العضوية تحتاجها الاحياء الجهرية بتراكيز واطئة جدا (١٠^-٣^ - ١٠^-٥^ مليمول) وتعرف هذه بالمغذيات المعدنية الدقيقة Micronutrient elements مثل الكوبالت (Co^{+2}) الذي يدخل في تركيب فيتامين (B_{12}) . ان الحاجة لهذا المعدن من قبل الطحالب الزرقاء المخضرة تستوفي باضافته بشكله اللاعضوي للوسط الزرعي .

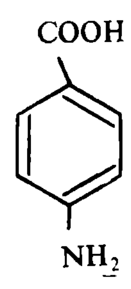
ان الحاجة للمغذيات الدقيقة يصعب تقديرها لصعوبة تنقية المعادن الاخرى منها فهي توجد بشكل شوائب حتى وان كانت الاملاح الاخرى المستعملة في الوسط الزرعي الصناعي نقية جدا . يمكن قياس الحاجة الى معدن معين في بعض الاحيان باضافة مادة مخلبية Chelating والتي تتحد مع المعدن باواصر متساوية Coordinate واواصر متكافئة (Valence) مكونة بذلك مركبا حلقيا وبذلك يزال المعدن من الوسط الزرعي ، ثم تضاف كمية صغيرة من المعدن وهكذا . ومن النتائج لهذه الاضافات يمكن رسم منحني بين كمية المعدن او الملح الحاوي على المعدن وتركيز المادة المخلبية وبذلك نحصل على خط مستقيم وعند تقاطع هذا الخط مع المحور يعطينا فكرة عن الكمية التي يحتاجها الزرع من المعدن .

وفي بعض الاحيان وخصوصا في الصناعات يكون هناك حاجة الى تكوين مادة معينة بكميات قصوى وليس الحصول على النمو الافضل ، لذلك تضاف المعادن بكميات غير طبيعية لتوفيرها للحصول على ناتج افضل من هذه المواد المعينة المرغوبة في الصناعة . واحيانا يتأثر هذا الناتج بمعدن معين مضاف للوسط الزرعي لذلك يجب ملاحظة المادة المصنعة ونوعية المادة للاناء عند التصنيع .

((عوامل النمو والفيتامينات))

كل مركب عضوي يتطلبه النمو يعرف بعامل النمو اما الفيتامينات فتعرف من قبل بعض المراجع على انها عوامل نمو ايضا وبعض المراجع تعرفها على انها مركبات عضوية يتطلبها النمو بكميات ضئيلة جدا . فالفيتامينات او عوامل النمو هي المركبات التي تفقد الاحياء المجهرية القدرة على تخليقها لذلك توجد حاجة اليها في الوسط الزرعي كي يحصل النمو . ان بعض الاحياء تكون بغنى عن هذه الحاجة اي انها لاتحتاج عند نموها الى فيتامينات مثل كلوريلا فولكارس **Chlorella vulgaris** وهذا لايعني ان الكائن الحي المجهري يستطيع النمو دون الحاجة اليها (لأن معظم الفيتامينات تلعب دورا مهما في فعاليات الايض كمرافقات الانزيمات) ولكن ذلك يعنى ان الكائن الحي المجهري يستطيع تخليق الفيتامينات بنفسه كما هو الحال في ذاتية التغذية .

ان الكائن الحي المجهري الذي يفقد القدرة او الذي لاتوجد لديه القدرة على تكوين الفيتامين او عامل النمو يقال له اوكسوترفيك او اوكسوميتروتروفيك Auxoheterotrophic او Auxotrophic لذلك الفيتامين او ذلك العامل . اما الكائن الحي المجهري الذي يستطيع تخليق عامل النمو او الفيتامين فيقال له بروتوتروفيك او اوكسو اوتوتروفيك Prototrophic Auxoautotrophic ان حالة الاوكسوتروفي Auxotrophy هي شكل محدد من عضوية التغذية هيتروتروفي Heteotrophy ولا توجد هناك علاقة بين الحاجة للفيتامين وعضوية التغذية بالنسبة الى مصادر الكربون والنتروجين حيث ان معظم الانواع التي تحتاج الى الفيتامين هي ذاتية التغذية من جميع النواحي الاخرى ماعدا حاجتها للفيتامين . وللعديد من عضوية التغذية اختيارية خاصة من ناحية مصادر النتروجين . ان الفيتامينات تكون ضرورية للنمو اذا فقدت الاحياء قابليتها على تكوينها كليا ولا يمكن الاستغناء عنها عند النمو فيقال لها Indispensable ففي هذه الاحياء لايحصل نمو دون توفر هذا الفيتامين او عامل النمو اما الاحياء الاخرى فأنها قد تستطيع تكوين فيتامين او عامل نمو معين ولكن بكميات غير كافية وهنا يكون عامل النمو اضافيا Accessory او مهيج Stimulatory ففي هذه الحالة قد يقصر هذا العامل من طور التطبع دون التأثير على سرعة النمو خلال الطور اللوغاريتمي ، تفسر هذه الحالة بأن الفيتامين يخلق من قبل الاحياء ولكن بكميات غير كافية وتوفيرها في الوسط يسهل الوصول الى الكميات التي يحتاجها الزرع في طور النمو اللوغاريتمي . وقد يزيد العامل كذلك من سرعة النمو قد يكون السبب في هذه الزيادة هو التغير في الفعاليات الايضية للخلية بمرور الوقت يؤثر تركيز عامل النمو على كمية الزرع فاحيانا تكون التراكيز العالية اكثر ضررا للنمو مثل p - Amino Benzoic Acid احد انواع فيتامين B .



: P- Amino Benzoic Acid d

وان زيادة قليلة منه عما يحتاجه الكائن المجهري تكون سمية وبصورة عامة تتناسب كمية الزرع تناسبا طرديا مع كمية عامل النمو حتى الوصول الى كمية قصوى من هذا العامل وان أية زيادة بعد ذلك تصبح غير ذات فائدة للنمو . ان هذا يحصل عادة مع الاحماض الامينية . حيث ان التراكيز التي تحتاجها الاحياء المجهرية منها تقع عادة بين ٢٠ ـ ٥٠ ميكروغرام من الحامض لكل مل وانها تثبط النمو عند زيادة تركيزها عن 10^{-3} M . كذلك انواع الاحماض الامينية ونسبها تؤثر كثيراً على سميتها .

ان التركيز الذي يحتاجه الكائن الحي المجهري من هذه الفيتامينات يعتمد على ظروف وعوامل اخرى في الزرع مثل طبيعة المواد الغذائية الاخرى المتوفرة ودرجة التهوية والرقم الهيدروجيني والظروف الفيزياوية وخاصة الحرارة فمثلا سكاروميس سرفيسي **Saccharomyces cervisiae** والتي تنمو جيدا في وسط زرعي صناعي تحت درجة حرارة ٣٠ْ م من دون الحاجة الى فيتامين Pantothenic Acid لكنها تصبح في حاجة الى هذا الفيتامين عند نموها في درجة حرارة ٣٨ْ م . وكذلك الفطر بيليكيولاريا كوليروجا **Pellicularia Koleroga** فانه يستخدم الثايمين او البايوتين لنموه في وسط حاو على السكروز ولكنه يحتاج فقط الى الثيمين عند نموه في وسط حاو على الكلوكوز . والحالة الثالثة عندما يكون الكلايسين Glycine هو مصدر النتروجين فان الفطر اريموثيسيم اشباى **Eremothecium ashbyii** يحتاج الى الاحماض الامينية ليوسين Leucine وارجينين Arginine كعوامل مساعدة للنمو . ولكن اذا كان مصدر النتروجين هو اسباراجين Asparagine فأنه لا يحتاج الى هذين الحامضين . كذلك تحتاج البكتريا المكورات العنقودية الذهبية **Staphylococcus aureus** الى اوراسيل Uracil عند تنميتها تحت ظروف لاهوائية ولكنها لاتحتج الى هذا الفيتامين تحت ظروف هوائية وبحضور الكلوكوز . وفي بعض الاحيان تنعدم الحاجة الى فيتامين او عامل معين اذا توفرت في الوسط الزرعي المواد التي يتخلق منها

ذلك الفيتامين Pantothenic Acid الذي يتخلق من Pantoic Acid و B - alanine كما يلي

$$CH_2(OH) - C(CH_2)(CH_3) - CH(OH) - COOH + H_2N - CH_2 - CH_2 - COOH \rightarrow CH_2(OH) - C(CH_3)(CH_3) - CH(OH) - CO - NH - CH_2 - CH_2 - COOH$$

Pantoic Acid   B-Alanine   Pantothenic Acid

فأن بكتريا وتديات دفتري **Corynebacterium diphthriae** تكفي بنموها في وسط حاو على B - Alanine وحده مما يدل على انها تستطيع تكوين Pantoic Acid وتكون Pantothenic Acid عند توفر B- Alanine وحله . كذلك الثايين فهو جزء من الانزيم Cocarboxylase ويتألف من جزئين هما ثايازول Thiazole وبيريمدين Pyrimidine :

Thiazole ثايازول

Pyrimidine بيريمدين

Thiamine ثايامين

جميع الطحالب المدروسة تستطيع صنع الثايمين من جزئية وبعض الطحالب تحتاج للجزء الكامل ثايمين مثل الطحلب امفورا كوفايفورميس **Amphora coffaeiformis** والبعض الاخر يحتاج الى ثايازول فقط مثل الطحلب بوليتوما اوسيلاتم **Polytoma ocellatum** والبعض الاخر يحتاج الى بريميدين فقط مثل الطحلب يوغلينا كراسيليس **Euglena gracilis** والبعض الاخر يحتاج للجزئين بيريميدين وثايازول مثل الطحلب جيلومونس باراميسيوم **Chilomonas. paramecium** كذلك تنتفى الحاجة الى الفيتامين اذا توفرت المادة التي تخلق من الفيتامين هذا فمثلا Pimelic Acid فأنه عامل نمو لعصيات الدفتريا ايضا ومنه يخلق البليوتين Biotin لذلك لا توجد حاجة للحامض عند توفر البايوتين .

Pimilic Acid

Biotin

واذا كان الفيتامين باشكال مختلفة يمكن ان تتحول من شكل الى آخر وعند تزويد الكائن الحي المجهري باحد هذه الاشكال يعوضه عن الحاجة الى ذلك الفيتامين مثل فيتامين B_6 الذي يوجد بالاشكال الثلاث التالية : ـ

وهـــذه الاشكـــال الثـــلاثـــة تتحول الى بـــيريـــد وكسالفوسفيـــت Pyridoxalphosphate وهو الشكـــــل الفعـــــال (مرافـــق الانزيم L- Laysine Decarboxylase) . اضافة اي شكل من اشكال هذا الفيتامين يعوض الحاجة الى بيريدوكسالو فوسفيت .

$$O_3^{=}-P-O-CH_2-$$ (CHO, OH, N, CH_3)

Piridoxalphosphate

كعامل نمو رغم وجود بعض الشواذ احياناً لهذه الظاهرة ولهذا الفيتامين وذلك حينما يوجد عائق للنضوح للفيتامين ولكن الخلية تمرر احد اشكاله . قد تكون الاحماض الامينية والببتيدات عوامل نمو بالنسبة للبكتريا فهي تستخدم كمصادر طاقة او كوحدات بنائية او كمصادر للنتروجين اضافة الى كونها عوامل نمو . ان وجود الاحماض الامينية يعوض احياناً عن بعض الفيتامينات التي تحتاجها البكتريا فمثلا في العائلة لاكتوبكتريسي Lactobacteriaceae فان الحامض الاميني دي ـ الانين D-Alanine وخليط من الاحماض الامينية الاخرى واليسارية L-Amino Acids تغني عن الحاجة الى فيتامين B_6 . ان الاحماض الامينية اليسارية التي تتطلبها الاحياء المجهرية والتي تعتبر الاكثر تواجداً في الطبيعة من الاحماض اليمنية D-Amino Acids التي لاتوجد في البروتينات الطبيعية ولكنها توجد في مركبات اخرى . ان بعض الاحماض الامينية تعمل كوحدات بنائية اولية Precursor لاحماض امينية اخرى ففي وسط زرعي حاو على عدد ضئيل من الاحماض الامينية يستخدم احدها كمادة اولية لبناء الحامض الاميني الناقص والذي يحتاجه الكائن الحي المجهري المعين واحياناً تعوض الببتيدات ذات الوزن الجزيئي القليل عن حامض اميني معين يحتاجه الكائن الحي المجهري للنمو . ولقد وصفت هذه الببتيدات بانها تجعل النمو يبدأ بصورة افضل عندما تكون كمية اللقاح قليلة . وتعزى هذه الظاهرة الى ان الببتيدات التي تستعمل كوحدات بنائية للبروتين انها لاتتعرض للفعاليات الهدمية مثل التي تتعرض لها الاحماض الامينية مثل عملية نزع الامونيا Deamination وعملية نزع ثاني اوكسيد الكربون

وغيرها . ان عملية توفير الفيتامينات او عوامل النمو من قبل جزيئات كبيرة نسبيا لاتحصل فقط في البكتريا ففي الطحالب التي تتغذى بعملية البلعمة Phagotrophy مثلا تبلع جزيئات الغذاء داخل فجوة غذائية يهظم الطعام فيها ثم يمتص عبر غشاء الفجوة الى الخلية ففي هذه الحالة توفر الفريسة الفيتامينات والاغذية للمفترس . ان هذه الطريقة من التغذية تحصل في الطحالب التي تنتمي الى يوغلينوفايتا Euglenophyta وكريزوفايتا Chrysophyta وبيروفايتا Pyrrophyta ان هذه الطريقة في التغذية لاتعني التعقيد في المتطلبات الغذائية على الرغم من انها تؤدي الى اعلال بعض الجهاز الانزيمي وذلك لانه سوف لايستغل لعدم وجود حاجة اليه . Decarboxylation

ان بعض الاحياء المجهرية مثل البدائيات Protozoa والبكتريا لاكتوباسيلي Lactobacili تحتاج الى اجزاء الاحماض النووية مثل بيورين Purine وبريميدين Pyrimidine بتراكيز واطئة جداً (١٠ ــ ٢٠ ميكروغرام / مل) ان بعض الاحياء لاتستطيع تكوين النيوكليوتايد Nucleotide من هذه القواعد وان هذه الاحياء تحتاج احيانا الى نيوكليوتايد ونيوكليوسايد جاهزة توفر في الوسط الزرعي مثل بكتريا لاكتوباسيلي وللحصول على نمو اقصى توفر هاتان المادتان (نيوكليوتايد ونيوكليوسايد) بتراكيز تصل الى ٢٠٠ ــ ٢٠٠٠ ميكروغرام/ مل .

ان بالامكان اختبار الحاجة الى فيتامين معين من قبل الكائنات المجهرية بتحضير وسط زرعي صناعي يحتوي على الفيتامينات . تنمي الاحياء على هذا الوسط ثم تجري تجارب بسحب فيتامين واحد من الوسط في كل مرة وتختبر القابلية على النمو في هذا الوسط فاذا وجد ان هناك حاجة لفيتامين معين فان النمو يتأثر او يتوقف عند سحب هذا الفيتامين من الوسط ، فالفيتامين التي تسحب من الوسط ولا تؤثر على النمو تعتبر غير ضرورية . وبما ان نمو زرع البكتريا ضمن تراكيز معينة لعامل النمو وهو يعتمد كلياً على تركيز ذلك العامل فيمكن تقدير الموجود من هذا العامل في وسط زرعي معين وذلك بقياس مقدار النمو الحاصل . تسمى تجارب التقدير الكمي لعامل غذائي بالطرق او التقديرات البايولوجية الدقيقة Microbiological Assay . ولقد استعملت هذه الطريقة لتقدير المعادن والاحماض الامينية والفيتامينات لاغراض البحث . وهناك في هذه الطريقة تنمي البكتريا في وسط زرعي صناعي خال من الفيتامين وتضاف للوسط تراكيز متزايدة منه وتقدر كمية النمو باحدى الطرق كزيادة الاعداد او زيادة كثافة الزرع .

يوضح رسم منحني قياس للنمو من هذه المعلومات . بعد ذلك تضاف المادة المطلوب ايجاد ماتحتويه من فيتامين فيها الى كميات اخرى من الوسط الزرعي وبنفس الطريقة السابقة ثم تقاس كمية النمو ومن المنحنى القياسي يمكن معرفة ماتحتويه من الفيتامين . ان الصعوبة في هذه الطريقة تقع في اختيار الوسط الزرعي الملائم الذي تضاف اليه المادة المطلوبة والذي يجب ان يكون متكاملا عدا الفيتامين او عامل النمو . .

الفصل الخامس

الجزء الأول

التخليق الضوئي

التخليق الضوئي هو عملية تحويل الاشعة المرئية الى اواصر طاقة عالية في مركب الادينوسين ثلاثي الفوسفات (ATP) واحينا في مركبات اخرى من قبل بعض الكائنات الحية مثل الطحالب وبعض انواع البكتريا والسوطيات الضوئية والنباتات العليا وتعتبر هذه العملية اكثر اشكال تحولات الطاقة تعقيداً وتبدأ بامتصاص الضوء من قبل صبغات موجودة في اجهزة متخصصة تتبعها عملية تحويل الطاقة الضوئية الى طاقة كيمياوية والتي يمكن استخدامها في عمليات البناء التي تحصل في جسم ذلك الكائن الحي . ان اهم عامل مشترك في جميع عمليات التخليق الضوئي هو تكوين ((ATP) .وهذه العملية تعرف بعملية الفسفرة الضوئية PHOTOPHOSPHORELATION ومـا يحـدث هنـا هو سلسلـة نقـل للالكترونات المتحررة خلال التفاعلات الضوئية الكيمياوية عند بدء العملية في الصبغات والاجهزة المتصلة بها حيث تتكون ATP خلال عبور الالكترونات في هذه السلسلة . ان بعض الالكترونات المتحررة يمكن ان تستخدم ايضاً في اختزال فوسفـات النيكوتـين امـا يـدادينـين ثنـائي النيوكليوتـايـد NICOTINAMIDE ADENINE DINUCLEOTIDE PHOSPHATE الذي يرمز له (NADP) توجد اختلافات عديدة بين مجاميع الاحياء المجهرية التي لها القدرة على التخليق الضوئي ففي حقيقية النواة والطحالب الزرقاء المخضرة البدائية النواة يكون ناتج العملية ATP و NADP المختزل (NADPH) وذلك خلال تفاعلات تعتمد على الضوء ويحصلان على متكافئات مختزلة REDUCING EQUIVALENTS من التحلـــل الضوئي للماء ويتحرر

الاوكسجين كناتج عرضي . ان جميع هذه الاحياء التي تحرر الاوكسجين هوائية المعيشة لأن عليها ان تتحمل الاوكسجين المتحرر في التخليق الضوئي . اما البكتريا التي لها القدرة على التخليق الضوئي فهي تكون ATP فقط في تفاعلات تعتمد على الضوء وهي لاتحرر الاوكسجين لأن معطي الالكترونات ومختزل NADP هو ليس الماء وهي تجري عمليات التخليق الضوئي تحت ظروف لاهوائية فقط .

في بكتريا الكبريت يكون كبريتيد الهيدروجين H_2S وأيون الكبريت S^{-2} هما العاملان المختزلان

$$H_2S + NADP^+ \longrightarrow S + NADPH + H^+$$

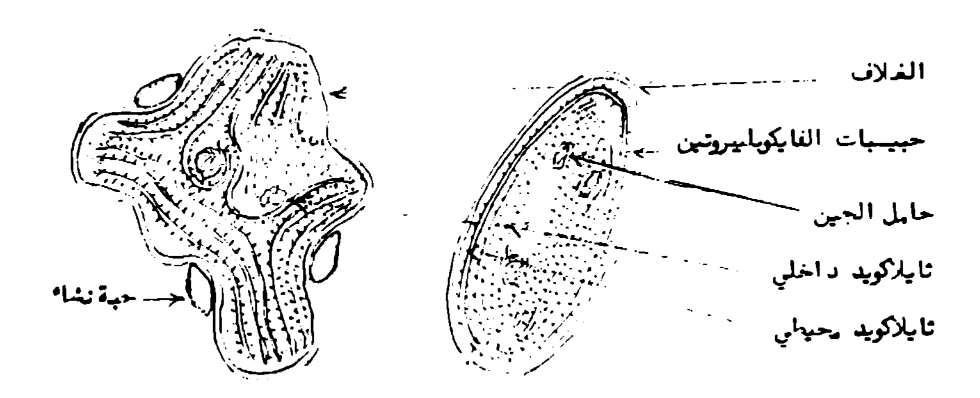
ففي بعض البكتريا يتجمع هذا الكبريت المتحرر على شكل حبيبات وفي البكتريا الاخرى يتأكسد الى كبريتات . ان عمليتي تكوين الكبريت واكسدته لاتتطلبان الضوء فالعمليتان تجريان في الظلام . اما في البكتريا البنفسجية غير المعتمدة على الكبريت اثيورودیسي ATHIORHODACEAE فهي عضوية التغذية وتستخدم مركبات عضوية مثل اللاكتيت ((LACTATE) او الماليت (MALATE) كمعطي للالكترونات وكمصدر للكربون ليست جميع انواع هذه المجموعة من البكتريا ضوئية مضطرة ولا هوائية مضطرة ففي الاختيارية تنقطع عملية التخليق الضوئي عند وجود الاوكسجين ويكون التنفس مصدراً للطاقة .

ان القدرة على التغذية الضوئية واستخدام طاقة الاشعاع المرئي في هذه الاحياء المجهرية تتطلب وجود صبغات لها القدرة على امتصاص الاشعة . ان هذه الصبغات تتواجد مع الانزيمات وحوامل الالكترونات المتحررة خلال العملية في تراكيب غشائية تدعى الثايلاكويد THYLAKOID ففي الطحالب الحقيقية النواة يتركب الثايلاكويد من نوعين من البروتين وهذان يرافقان جزيئات الكلوروفيل والصبغات الاخرى ويعتقد انها مغروسان في غشاء شحمي مكون من شحوم فوسفاتية واخرى كربوهيدراتية كلايكولبيد GLYCOLIPID ففي هذه الاحياء توجد اغشية الثايلاكويد في تراكيب خاصة تدعى الكلوروبلاست CHLOROPLASTS كما هو الحال في النباتات العليا .

ان كلوروبلاست الطحالب تظهر بعض الاختلافات في الشكل والحجم والعدد مقارنة بتلك الموجودة في النباتات العليا ، فبعض الطحالب مثل مكرومونا س MICROMONAS تحتوي على كلوروبلاست واحدة وطحالب اخرى مثل اليوغلينا EUGLENA فتحتوي على مئات منها . اما في التركيب فتختلف كلوروبلاست الطحالب عنها في النباتات الخضراء بتركيبين اولها وجود

البايرينويدات PYRENOIDS وهي مناطق متخصصة توجد داخل البروتوبلاست وتكون مغطاة بطبقة من النشاء مثل ماهو موجود في الكلوروفيسي CHLOROPHACEAE او تكون محاطة بغشاء مثل ماموجود في بعض الدايتومات DIATOMS . اما في الطحالب الاخرى فتميز من كثافة القالب MATRIX الذي يمكن اعتباره تجمعات انزيمية بصورة مركزة ومواد ناتجة من عمليات التخليق الضوئي وثانيها في اختلاف ترتيب الثايلاكويد داخل القالب المعروف بالسدير STROME الذي يمكن ان يأخذ شكل وعاء منفرد كما في الطحالب الحمراء رودوفيسي Rhodophyceae (شكل ٢٤) او شكلازوجيا كما في طحالب كريبتوفيسي Cryptophyceae (شكل ٢٥) وشكلا ثلاثيا كما في الداينوفلاجيلات Dinoflagellates (شكل ٢٦ أ) وقد تكون الحزم الثلاثة للثايلاكويد منفصلة كما في زانثوفيسي Xanthophyceae (شكل ٢٦ ب) او ثلاثة حزم متصلة كما في يوغليوفيسي Euglenophyceae حيث يحاط الكلورويلاست بغشاء نصف ناضح يتألف من طبقتين غالبا ولكن بعض كلوربلاست قسم من الطحالب مثل يوغلينويد Euglenoid (شكل ٢٦ جـ) والدينوفلاجيلات Dinoflagellates (شكل ٢٦ أ) يشذ عن ذلك لانه يتكون من ثلاثة طبقات . ان الكلوروبلاست المتكامل النمو والوظيفة لايوجد اتصال بين الغشاء والتايلاكويد حيث يوجد بين غشائي الكوروبلاست فجوة تفصل بينهما . وتتركب البروتوبلاست من البروتين والشحوم والصبغات . اهم هذه الصبغات هي :

كلوروفيل A : وتعتبر الصبغة الاساسية التي تمتص الضوء في الطحالب والنباتات العليا وبعض انواع البكتريا ويوجد منها اربعة انواع رئيسية في الطحالب وهي كلوروفيل A وكلوروفيل B ، وكلوروفيل C بنوعيه (C_1, C_2) وكلوروفيل D ويعتبر كلوروفيل A هو الاوسع انتشارا حيث يوجد في جميع الطحالب اما الكلوروفيلات الاخرى فأنها تعتبر اضافية او ثانوية والشكل (٢٧) التالي يوضح التركيب الكيمياوي لكلوروفيل A ان كلوروفيل B له تركيب كيمياوي يشابه كلوروفيل A ماعدا الاختلاف في الموقع 3 تكون -CHO بمحل $-CH_3$. وكلوروفيل C_1 له تركيب مثل A ايضا ويختلف بوجود المجموعة CH-CHCOOH في الموقع 7 وتوجد اصرتان بين الموقعين 7 ,8 ان كلوروفيل C_2 له تركيب مثل C_1 ولكن توجد ايضا المجموعة $-CH=CH_2$ في الموقع 4 بدلا من $CH_2=CH-$ ، تتوزع انواع الكلوروفيل في مجاميع الطحالب كما مبين في الجدول (١) ادناه .



شكل (٤) رسم تخطيطي لكلوروبلاست الرودوفايسي Rhodophyceae

يظهر فيه ترتيب الثايلاكويدات

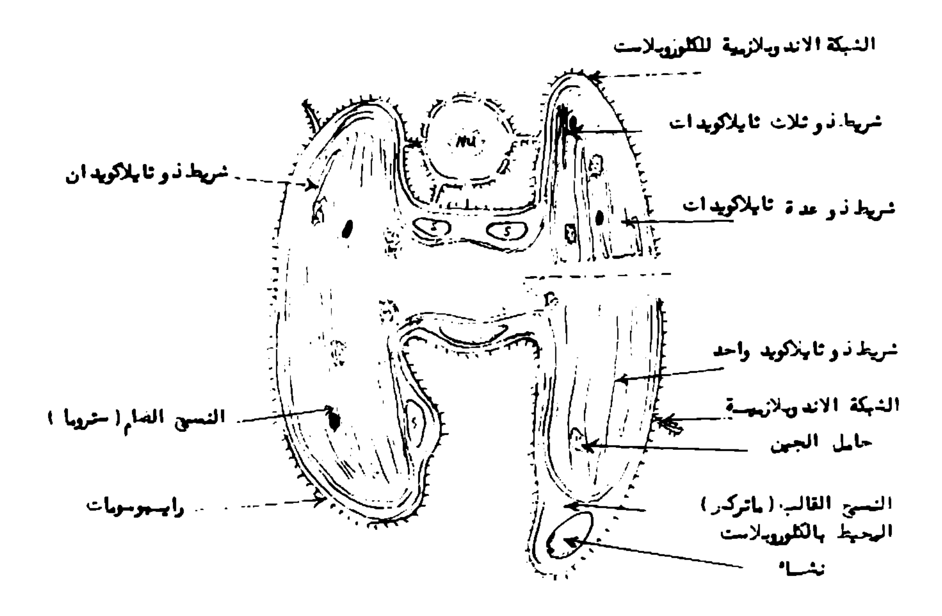
أ ــ الكلوروبلاست المفصصة مع عدم وجود الثايلاكويد المحيطي وينتهي الثايلاكويد قرب الغلاف ويظهر كذلك ترتيب حبيبات الفايكوبليبروتين (bp)

(phycobiliprotein)

ب ــ كلوروبلاست قرصي ويظهر فيه الثايلاكويد المحيطي .

الشكل مرسوم عن

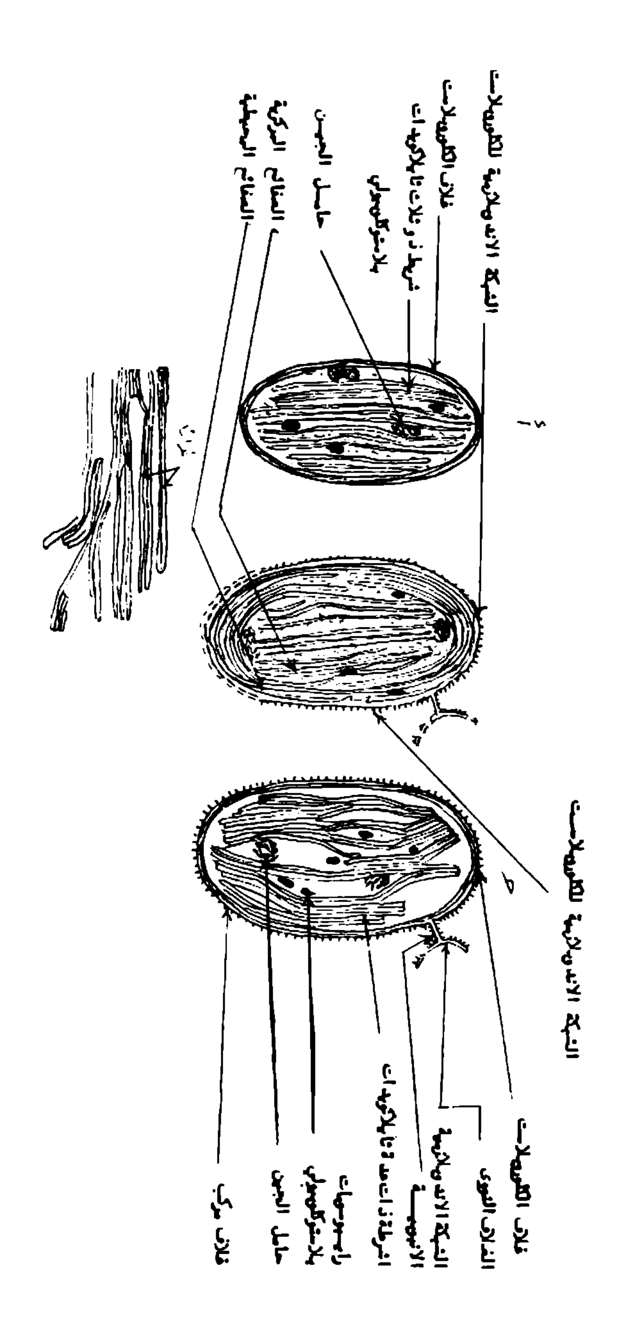
Stewart, W. D. P.; Ed. (1974) Algal physiology and Biochemistry. Botanical monograph, Eds. J. H. Burnett, H. G. Baker, H. Beevers and P. R. Whatley, Vol. 10, p. 129. Oxford, Blackwell Scientific Publications.



شكل ( ) شكل تخطيطي يظهر فيه التغايرات الثلاث الممكنة لترتيب الثايلاكويدات في خلايا مختلفة في الكريتوفايس Cryptophyceae . الجهة اليسرى يظهر فيها التنظيم المثالي وفيه اشرطة ذات ثايلاكويدان . الجهة اليمنى العليا تغاير عن التنظيم المثالي وله اشرطة ذات ثلاث ثايلاكويدات اما الجهة اليمنى السفلى فيظهر فيها الثايلاكويد المنفرد .

شكل مرسوم عن

Stewart, W. D. P.; Ed. (1974). Algal Physiology and Biochemistry. Botanical monograph, Eds. J.H. Burnett, H.G. Baker, H. Beevers and F.R. Whatley, Vol. 10, p. 150. Oxford, Blackwell Scientific Publications.



الشبكة الاندوبلازمية للكلوروبلاست
غلاف الكلوروبلاست
شريط ذو ثلاث ثايلاكويدات
بلاستوكلوبيولي
حامل الجين
الصفائح المركزية
الصفائح المحيطية
أ
غلاف الكلوروبلاست
الغلاف النووى
الشبكة الاندوبلازمية
الانبوبية
اشرطة ذات عدة ثايلاكويدات
رايبوسومات
بلاستوكلوبيولي
حامل الجين
غلاف مركب

رسم تخطيطي لترتيب الثايلاكويد

١ ـ كلوروبلاست في الداينوفلاجيليت Dinoflagellate ويظهر فيها الغلاف ذو ثلاث طبقات واشرطة ذات ثلاث ثايلاكويدات وغير الحاوية على صفيحة محيطية .

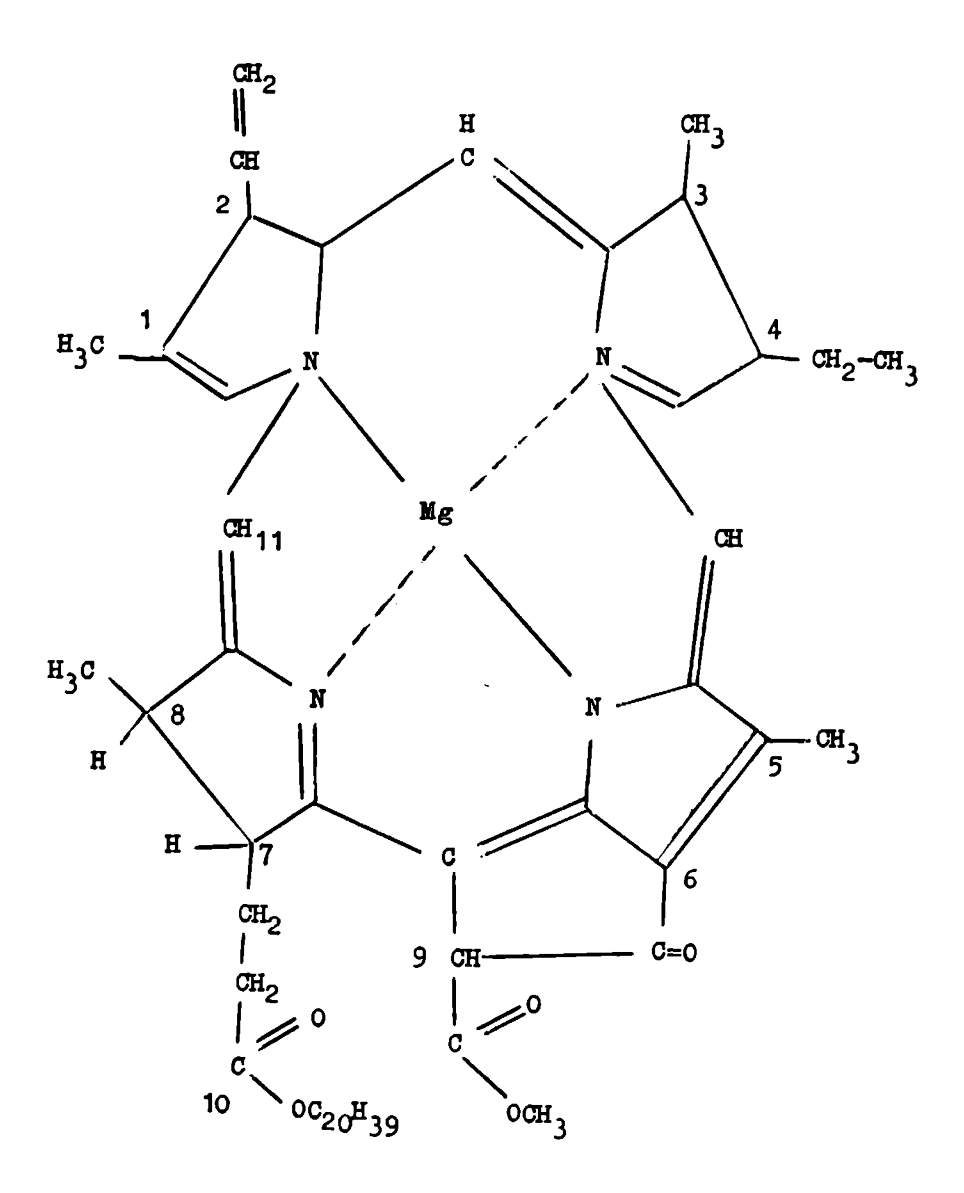
ب ـ كلوروبلاست في الزانثوفايسي Xanthophyceae وكرايسوفايسي Chrysophyceae وفيوفايسي Phaeophyceae ويظهر فيها اشرطة ذات ثلاث ثايلاكويدات مع صفيحة محيطية ويظهر كذلك النتؤات الانبوبية من الكوروبلاست . اما في الهابتوفايسي Haptophyceae واليوستكماتافايسي Eustigmatophyceae فلها كلوروبلاست مشابهة ولكنها تفتقر الى الصفائح المحيطية .

جـ ـ كلوروبلاست اليوغلينا (Eugienoid) ويظهر فيها الغلاف ذو ثلاث اغشية وغرانا مستطيلة لثلاث ثايلاكويدات متصلة .

د ـ غرانا في الكلوروفايسي Chlorophyceae .

الشكل مرسوم عن

Stewart. W .D. P., Ed. (1974). Algal Physiology and Biochemistry. Botanical monograph, Eds. J. H. Burnett, H. G. Whatley, Vol, 10, P. 131. Oxford, Blackwell Scientific Publications.



شكل (٢٧) التركيب الكيمياوي لكلوروفيل A

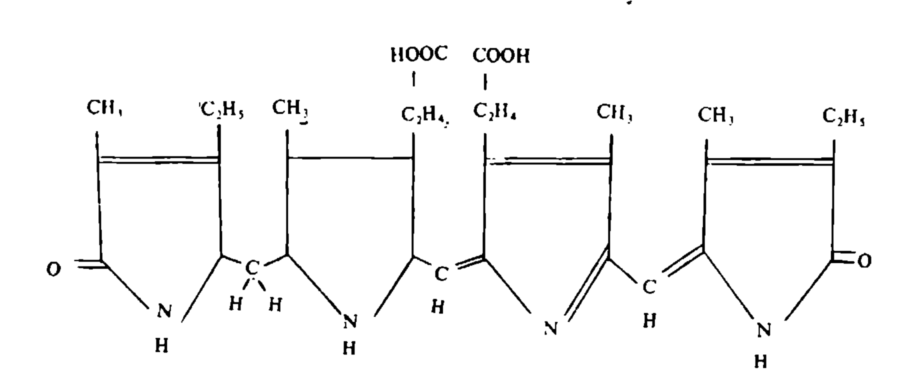
D	(C_2-C_1) C	B	A		مجموعة الطحالب
−	−	−	+	CYANOPHYCEAE	سيانوفيسي
+	−	−	+	RHODOPHYCEAE	رودوفيسي
−	−	−	+	CRYPTOPHYCEAE	كربتوفيسي
−	+	−	+	DINOPHYCEAE	دينوفيسي
−	+	−	+	RHAPHIDOPHYCEAE	رافيدوفيسي
−	+	−	+	CHRYSOPHYCEAE	كريزوفيسي
−	+	−	+	HAPTOPHYCEAE	هابتوفيسي
−	+	−	+	BACILLARIOPHYCEAE	باسيلاريوفيسي
−	+	−	+	XANTHOPHYCEAE	(وتشمل كرانثوفيسي
−	+	−	+	EUSTIGMATOPHYCEAE	يوستيكماتوفيسي
−	+	−	+	PHAEOPHAYCEAE	فيوفيسي
−	+	−	+	PRASINOPHYCEAE	براسينوفيسي
−	+	+	+	EUGLENOPHYCEAE	يوغلينوفيسي
−	−	+	+	(CHLOROPHCEAE	(وتشمل كلوروفيسي
−	−	+	+	CHAROPHACEAE	كاروفيسي

جدول (1) يوضح توزيع انواع الكلوروفيل في الطحالب
(عند وجود الكلوروفيل يرمز له بـ (+) وعند عدم وجوده يرمز له بـ (−)

عند وجود الكلوروفيل يرمز له بـ (+) وعند عدم وجوده يرمز له بـ (−) ان صبغة كلوروفيل A لها القدرة على امتصاص الضوء في منطقتين الاولى في منطقة الضوء الاحمر باامواج تقع اطوالها بين ٦٦٠ ـ ٦٦٥ نانوميتر والمنطقة الاخرى تكون طول موجتها ٤٣٠ نانوميتر اما كلورفيل B فيوجد في مجاميع الطحالب المعقدة التركيب والتي تصل في تعقيد تراكيبها الى النباتات العليا ، ان وظيفة هذا الكلورفيل هي تجميع الضوء وتحويله الى كلورفيل A ، يمتص كلورفيل B الضوء من منطقتين ايضا الاولى هي في الشريط الاحمر (RED BAND) وتقع قرب ٦٤٥ نانوميتر والثانية بالقرب من ٤٣٥ نانوميتر . اما كلوروفيل C فيوجد في الطحالب التي تمثل خط النبات البني وهو يتألف من جزيئين منفصلين C_1 و C_2 يعمل كلوروفيل C كصبغة مساعدة الى جهاز التخليق الضوئي الثاني في

الدايتومات DIATOMS والطحالب البنية . ان كلورفيل C_1 له امتصاص اقصى رئيسي في منطقة ٦٣٤ نانوميتر و ٥٨٣ نانوميتر و ٤٤٤ نانوميتر بينما تكون لكلوروفيل C_2 مناطق امتصاص قصوى في ٦٣٥ نانوميتر و ٥٨٦ نانوميتر و ٤٥٢ نانوميتر . اما كلورفيل D فهو ثانوي ايضا وعمله في التخليق الضوئي غير معروف وله ثلاثة مناطق امتصاص قصوى هي ٦٩٦ نانوميتر و ٤٥٦ نانوميتر و ٤٠٠ نانوميتر . اما منطقة الامتصاص الرئيسية فتقع في المنطقة الحمراء .

ان كمية الكلورفيل في الطحالب تتأثر بطبيعة الغذاء المتوفر كما هي الحالة في التغذية المعدنية مثل نقص الحديد والنيتروجين والمغنسيوم لها تأثير فعال على تكوين الكلورفيل وعلى كميته ، كما وان كمية الكلورفيل تتناسب عكسيا مع كثافة الضوء اثناء النمو وكذلك تتأثر كميته بدرجة حرارة النمو ، فالنمو بالدرجة الفضلى والتعرض لكثافة ضوئية معتدلة ينتج كمية قصوى للكلورفيل في بعض الطحالب مثل اناسيستس نديولانس **Anacystis nidulans** كما وتتأثر كميته بدرجات مختلفة بالنسبة لعمر الخلية بالاضافة الى الكلورفيل توجد صبغات اضافية اخرى في الطحالب ، ففي الطحالب الحمراء توجد صبغة الفايكواريثروبيلين PHYCOERYTHROBILIN الذي يوجد في الطحالب الحمراء وبعض الطحالب الزرقاء المخضرة بدل كلوروفيل B ويمتص الضوء بصورة قصوى في الامواج الضوئية ٤٩٠ ، ٥٤٦ و ٥٧٦ نانوميتر . وفي الطحالب البنية يوجد الفيكوزانيثن FUCOXANTHIN وهو نوع من انواع الكاروتينويد CAROTINOIDS والذي يمتص الضوء بصورة قصوى في المناطق ٤٢٥ ، ٤٥٠ ، ٤٧٥ نانوميتر ويوجد في الدايتومات ايضا



PHYCOERYTHROBILIN

HO O O HO OCOCH₃

FUCOXANTHIN تركيب الفيوكوزانثين

توجد بعض التراكيب الاخرى في الكلوروبلاست داخل القالب MATRIX او الستروما STROMA للطحالب وهي البلاستوكلوبيولي PLASTOGLOBULI ومناطق العيون EYESPOTS . البلاستوكلوبيولي تعتمد على سرعة تكوين الشحوم . وهناك اثباتات على ان هذه الحبيبات تحتوي على صبغات الكاروتينويد CAROTENOID والبلاستوكينون PLASTQUINONE وعلى كميات قليلة من الكلوروفيل . وفي الطحالب المتحركة يمكن ان تشكل مجاميع من الحبيبات المتراصة عيونا تدعى EYESPOTS او ستيكما STIGMA وهذه التراكيب تعتبر مستلمات بدائية للضوء ويمكن ان يكون اصلها من البلاستوكلوبيولي . ويوجد في الكلوروبلاست الرايبوسومات والحامض النووي DNA ايضا . اما في الاحياء البدائية النواة مثل البكتريا والطحالب الزرقاء المخضرة فيكون جهاز التخليق الضوئي كالاتي : ــ

(١) ــ البكتريا : ان البكتريا التي لها القدرة على التخليق الضوئي تقع في ثلاثة مجاميع رئيسية هي بكتريا الكبريت البنفسجية THIORHODACEAE والبكتريا البنفسجية التي لا تعتمد على الكبريت ATHIORHODACEAE وبكتريا الكبريت الخضراء CHLOROBACTERIACEAE وجميعها تفتقر الى الكلوروبلاست ففي الاولى يكون جهاز التخليق الضوئي عبارة عن امتدادات للغشاء السايتوبلازمي وهي بشكل اوعية VESICLES او انابيب او صفائح LAMELLA شكل (٢٨) وجميعها من ثايلاكويدات تأخذ شكلا مختلفا في كل نوع . اما في الثانية (اثيوروديسي) فيأخذ اشكالا مختلفة . اما في الثالثة فهو عبارة عن سلسلة من اوعية متصلة بالغشاء السايتوبلازمي ولكنه ليس دائم الاستمرار NOT CONTINUOUS معه .

اما الصبغات فتشكل مع الغشاء مركبات تأخذ اشكالا موحدة UNIFORM تسمى حاملة الصبغات CHROMATOPHORE وتتألف من خليط من البروتين والدهون وصبغات التخليق الضوئي . ان صبغات التخليق الضوئي في البكتريا مشابهة ولكنها ليست مماثلة لتلك الموجودة في النباتات ففي البكتريا فأن كلوروفيل A الذي يدعى بكتيرو كلوروفيل A تكون المجموعة ـ $CH_3-C=O$ في الموقع (٢) بدلا من المجموعة $CH_2 = CH-$ الموجودة في الطحالب راجع الشكل (٢٧) . اما كلوروفيل B فتركيبه في البكتريا غير معروف في الوقت الحاضر . ان كلوروفيل C في البكتريا يختلف عن كلوروفيل A في الطحالب بما يلي : تكون المجموعة ـ $HO(CH_3)(H)C-$ في الموقع (٢) بدلا من المجموعة $CH_2 = CH-$ وكذلك توجد ذرة هيدروجين في الموقع (٩) (بدلا من المجموعة ـ $CH_3-O-C=O$ وان الايستر $H_{25}C_{15}-O4-$ يعوض عن الايستر $H_{39}C_{20}-O-$ في الموقع (١٠) وان $CH-$ تعوض عن H في الموقع (١١) راجع شكل (٢٧) . اما كلوروفيل D في البكتريا فيشبه كلوروفيل C في البكتريا ولكنه يختلف عنه في موقع واحد ففي كلوروفيل D في البكتريا توجد ذرة هيدروجين في الموقع (١١) بدلا من CH_3- . اما في بكتريا الكبريت الخضراء فان الصبغتين الاساسيتين كلوروفيل البكتريا C ، D اللتان تمتصان الضوء في ٦٥٠ ، ٦٦٠ نانوميتر على التوالي ، وبالاضافة الى هاتين الصبغتين تحتوي هذه المجموعة من البكتريا على كلوروفيل البكتريا A الذي يمتص الضوء في ٨٠٠ ـ ١٠٠٠ نانوميتر اما في البكتريا البنفسجية فالصبغة الاساسية هي كلوروفيل البكتريا A كما وتحتوي على كميات لابأس بها من صبغة كلوروفيل البكتريا B . اما الكاروتينات الموجودة في البكتريا التي لها القدرة على التخليق الضوئي فهي متخصصة لكل نوع وتختلف فيما بينها على خلاف تلك الموجودة في الطحالب والنباتات الخضراء ففي المجموعة ثيوروديسي يوجد الاوكينون Okenone كما ويوجد ايضا في هذه المجموعة اللايكوبين Lycopene والسبرللوزانيثين Spirilloxanthin

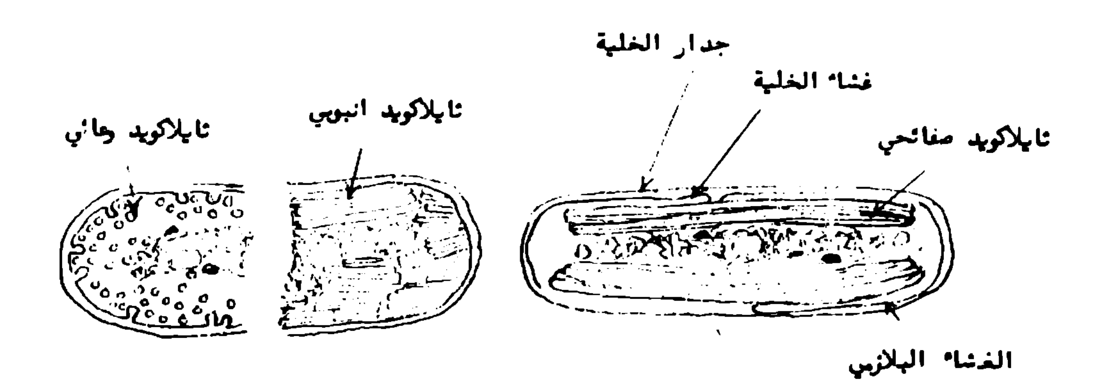
اللايكوبين Lycopene والسبرللوزانيثين Spirilloxanthin

O
OH,

تركيب Okenone في الثايوروديسى (بكتريا الكبريت البنفسجية)

تركيب اللايكوبين Lycopene

تركيب اللايكوبيـن Lycopene



شكل (٢٨) شكل تخطيطي يظهر فيه ترتيب الثايلاكويدات في البكتريا البنفسجية ويظهر فيه الثايلاكويد الوعائي والانبوبي والصفائحي .

الشكل مرسوم عن

Stewart, W . D. P., Ed. (1974). Algal Physiology and Biochemistry. Botanical monograph, Eds. J. H. Burnett, H. G. Baker, H. Beevers and F. R. Whatley, Vol. 10, p. 127. Oxford, Blackwell Scientific Publications.

Spirilloxanthin تركيب سبيريلوزانيثن

اما في مجموعة البكتريا البنفسجية التي لاتعتمد على الكبريت (ايثوروديسي) Athiorhodaceae فتوجد فيها صبغات اللايكوبين والسبرويلوزانيثن اضافة الى صبغة ثالثة تدعى بهيدروكسيفيرويدينون Hydroxyspheroidenone

تركيب هيدروكسيفيرويدينون

اما المجموعة الثالثة اي في بكتريا الكبريت الخضراء كلوروبكتريسي Chlorobacteriaceae فتوجد الصبغات الثلاث الكلوروباكتين Chlorobactene والبيتا رينارانين B-Isorenieratene والايسورينيراتين Isorenieratene

Chlorobactene تركيب الكلوروبكتين

B-Isorenieratene تركيب البيتا ايسورينراتين

ISORENIERATENE تركيب الايزوريتراتين

اما الشحوم التي عزلت من التراكيب ذات القدرة على التخليق الضوئي في البكتريا فهي الشحوم الفوسفاتية بصورة رئيسة مثل فوسفاتيدل ايثانول امين PHOSPHATIDYLETHANOAMIN والكوينونـــــات QUINONES. ان الكوينون في بكتريا الكبريت الخضراء هو ميناكويثون MENAQUINONE وفي بكتريا الكبريت البنفسجية هو يوبيكوينون UBIQUINONE وتركيبه الاتي

(Coenzyme Q8) Ubiquinone تركيب اليوبيكوينون

اما مركبات الفايكوبيلين PHYCOBILIN فهي غير معروفة في البكتريا . وتوجد الانزيمات ايضا في تراكيب التخليق الضوئي في البكتريا وكذلك حاملات الالكترونات مثل السايتوكرومات CYTOCHROMES والفيريدوكسين FERREDOXIN . ان الفيريدوكسين الموجود في البكتريا يختلف عن مثيله الموجود في الطحالب الخضراء والخضراء المزرقة حيث ان له لونا بنيا غامقا ويمتص الضوء بدرجة قصوى في الامواج التي لها طول ٣٩٠ نانوميتر ويحتوي على ٤ ــ ٦ ذرات من الحديد في كل جزيئة وله وزن جزيئي يبلغ ٦٠٠٠ دالتون في بكتريا الكبريت الخضراء .

٢ ـ الطحـالـب الزرقـاء المخضرة سيـانوفيس Cyanophyceae تكون هـذه الكائنات الحية بدائية النواة ولا يوجد جهاز التخليق الضوئي فيها كجزء منفصل فهي لا تملك كلوروبلاست حقيقية حيث ان الاجزاء ذات العلاقة بالتخليق الضوئي توجد على شكل اكياس الثايلاكويد وهي من النوع الصفيحي **Lamellar** وهي متراصفة الواحدة بجانب الاخرى وهذه متشابهة لما هو موجود في الكائنات الحقيقية النواة حتى يصح ذلك بالنسبة الى السايتوكروم والفيرودوكسين . اما الصبغات فان الصبغة الرئيسة هي كلوروفيل A واما الصبغات الاضافية فهي الفايكوسيانين (Phycocyanin) وهي من انواع البليبروتين (Biliprotein) . يوجد ثلاث انواع من الفايكوسيانين هي آر فايكوسيانين (R-Phycocyanin) في الطحالب الحمراء وسي فايكوسيانين (C-Phycocyanin) وهي تحتوي على الفايكوارتروبلين (Phycoerythrobilin) وفايكوسيانوبيلين (Phycocyanobilin) وتمتص الضوء في منطقة ٥٥٣ نانوميتر وفي ٦١٥ نانوميتر . اما النوع الثاني من الفايكوسيانين فهو سي فايكوسيانين (C-Phycocyanin) وهو يتألف من وحدتين تختلفان في اوزانها الجزيئية باختلاف الطحالب وان تركيبها الجزيئي لايزال تحت الدراسة . اما النوع الثالث من الفايكوسيانين فهو اللافايكوسيانين (Allaphycocyanin) الذي يتألف من جزء واحد في بعض الطحالب او من وحدتين في طحالب اخرى وهو ايضا لايزال موضوع درس .

التخليق الضوئي :

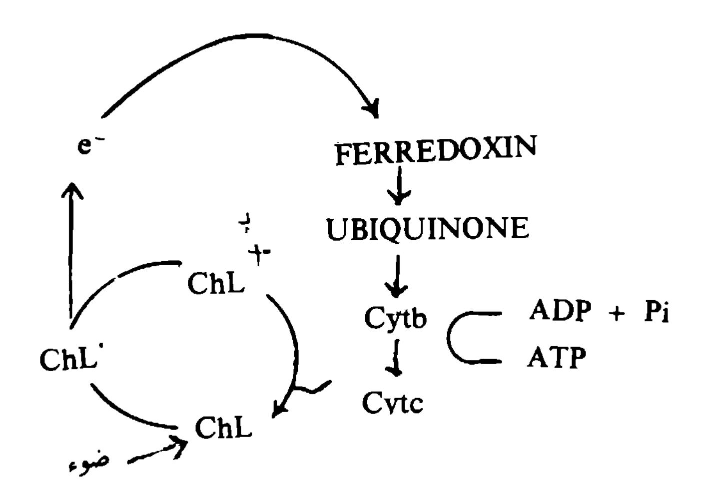
ان الاشعاع الكوني يوفر الطاقة كي تستمر الحياة على الارض خلال عملية التخليق الضوئي وذلك بتحويل تلك الطاقة الى طاقة كيمياوية . ان الاستفادة من هذه الطاقة الضوئية تحصل بعد امتصاصها من قبل صبغات خاصة بذلك ، ففي النباتات (وتشمل الطحالب ايضا) تمتص الطاقة بواسطة ثلاثة انواع رئيسية من الصبغات هي (١) الكلوروفيل الذي يمتص الضوء الازرق والاحمر مثل كلوروفيل (A) الموجود في جميع انواع الطحالب وكلوروفيل B الموجود في الطحالب الخضراء . (٢) الكاروتينود الذي يمتص الضوء الازرق والاخضر مثل بيتاكاروتين الموجود في جميع الطحالب والفيوكوزانيثن الموجود في الطحالب البنية . (٣) الفايكوبيلين الذي يمتص الضوء الاخضر والاصفر والبرتقالي مثل ار فايكوارثرين الموجود في الطحالب الحمراء وسي فايكوسيانين الموجود في الطحالب الزرقاء المخضرة اما في البكتريا فيوجد الكلوروفيل والكاروتينويد اما الفايكوبيلين فهو غير موجود فيها .

ان امتصاص الضوء في البكتريا يحدث في امواج الضوء المرئية ويمتد الى امواج ضوئية مقدارها ٩٢٠ نانوميتر ، فكلوروفيل البكتريا يمتص الضوء في عدة مناطق منها في المنطقة البنفسجية ٤٠٠ نانوميتر والاخرى قرب الحمراء او تحت الحمراء ٦٠٠ – ٨٠٠ نانوميتر . اما الكاروتينويد فانه يمتص الضوء بين ٤٥٠ – ٥٥٠ نانوميتر .

توجد مجموعتان من التفاعلات في عملية التخليق الضوئي الاولى التفاعلات الضوئية LIGHT REACTIONS والثانية تفاعلات الظلام DARK REACTIONS

١ – التفاعلات الضوئية :

في البكتريا تشمل التفاعلات الضوئية جهازا فعالا واحدا والذي يشمل دورة في عملية الفسفرة الضوئية لمركب الادينوسين الثلاثي الفوسفات (ATP) كما هو في الشكل (٢٩) .

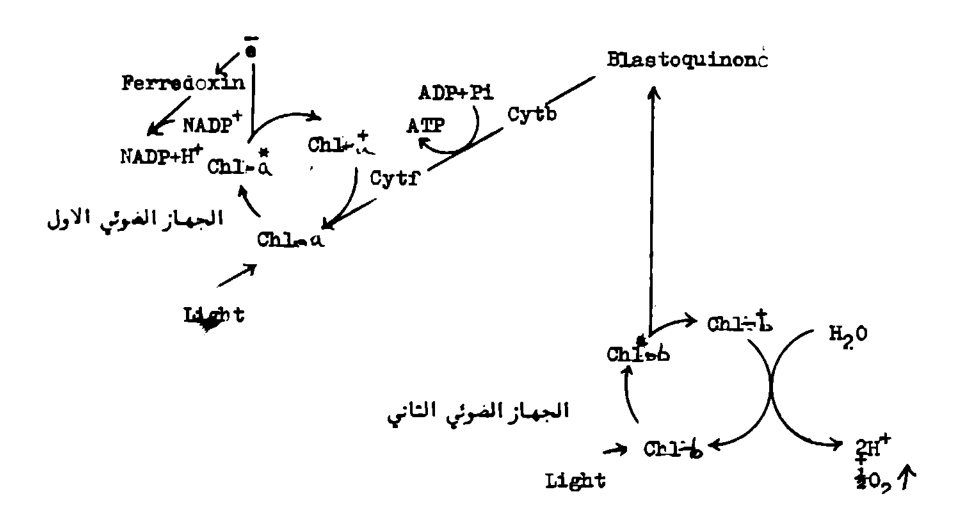


شكل (٢٩) دورة عملية الفسفرة الضوئية المغلقة في البكتريا والتي يتحفز فيها الكلوروفيل (EXCITATION) بواسطة الاشعاع الضوئي والذي ينتهي بقذف الالكترون ليكون ايون الكلوروفيل (Chl^+) .
(ChL˙) تمثل الكلوروفيل المحفز بواسطة الاشعاع الضوئي

خلال هذه الدورة يمتص الضوء من قبل جزيئة الكلوروفيل ويقذف الكترون يملك طاقة ذو جهد عال للاختزال والاكسدة (REDOX POTENTIAL) ينتقل هـذا الالكـترون الى موقـع اخر هو الفـيريـدوكسين FERREDOXIN ان الالكترونات المستلمة من قبل الفيريدوكسين تعطي الى مركب اخر يسمى يوبيكوينون UBIQUINONE (وهو مرافق الانزيم Q) ومن هذا المركب تنتقل الالكترونات عبر سلسلة من السايتوكرومات ترجع بعدها الى الجهاز الضوئي لاختزال ايون الكلوروفيل وتسترجع بذلك جزيئة الكلوروفيل المتعادلة. نظرا لوجود الكاروتين يمكن امتصاص ضوء ذي طاقة اعلى من الضوء الممتص بواسطة كلوروفيل البكتريا من هذه الصبغات تنقل الطاقة الضوئية الى الكلوروفيل. وان للبكتريا القدرة على اختزال NADP بواسطة الكترونات تتحرر من مواد غير الماء مثل كبريتيد الهيدرجين او من مصادر عضوية. تستعمل هذه الالكترونات لاختزال ايون الكلوروفيل Chl^+ وتحويله الى جزيئة متعادلة Chl . اما في الطحالب الحقيقية النواة وفي الطحالب الزرقاء الخضرة فأن عملية التخليق الضوئي تتصف بوجود جهازين ضوئيين بدلا من جهاز واحد كما هو الحال في البكتريا. ان الجهاز الضوئي الاول مشابه لما هو موجود فى البكتريا ولكن الالكترون الذي يطلق من الكلوروفيل (كلوروفيل A في هذه الحالة) يستعمل لاختزال فوسفات النيكوتين ادنين ثنائي النيوكلوتايد (NADP) كما هو موضح في الشكل (٣٠)

بعد تحرر الالكترون من كلوروفيل A يستلم من قبل الفيريدوكسين الذي تستلم كل جزيئة منه الكترونا واحدا. ان الفيريدوكسين في الطحالب له وزن جزيئي ١٢٠٠ دالتون ويحتوي على ذرتين من الحديد وذرتين من من الكبريت في كل جزيئة وان الجهد المختزل القياسي لجزيئات الفيريدوكسين هذه تساوي ٤٠٠ مليفولت

لذلك فان الالكترون المستلم من قبل هذه الجزيئات يعطي طاقة عالية على عكس الالكترونات التي تستلمها البلاستوكونيون PLASTOQUINONE في الجهاز الضوئي الثاني والتي لها جهد مختزل قياسي مقداره صفر مليفولت وهو اقل بكثير من الاول. عند عبور الالكترون في الجهاز الضوئي الاول الفيريدوكسين الى الـ $NADP^+$ لاتتكون ATP في هذا النقل. ان الالكترون الذي تحرر من كلوروفيل A يعوض بواسطة الجهاز الضوئي الثاني وعند النقل لهذه الالكترونات عبر سلسلة السايتوكروم ليصل الى ايون الكلوروفيل A ($Chla^+$) تتكون ATP من تفاعل الفوسفات غير العضوية (Pi) مع الادينوسين ثنائي الفوسفات ADP . ان الجهازين الضوئيين يتصلان ببعضها بواسطة السايتوكروم F الذي يوجد فقط في الاجهزة الضوئية، اما السايتوكرومات الاخرى فتوجد في اجهزة غير ضوئية ايضا ماعدا البلاستوكينون. ان ايون الكلوروفيل في الجهاز الضوئي الثاني ($Chla^+$) يتعادل



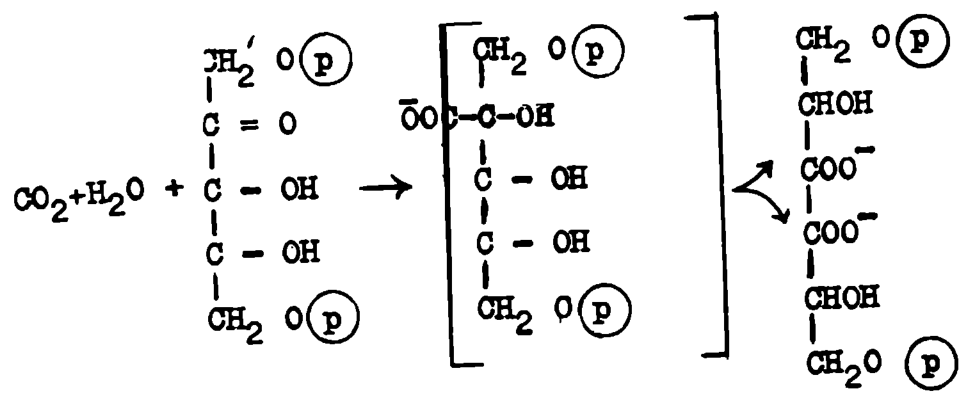
شكل (٣٠) يوضح عملية الفسفرة الضوئية المفتوحة في الطحالب

باستلامه الكترون متحرر من التحلل الضوئي للماء وتكوين غاز الاوكسجين . يمكن ان ينفصل الجهاز الضوئي الاول عن الثاني وان يغلق الجهاز الضوئي الاول لتكوين ATP

لايتحرر الاوكسجين في عملية التخليق الضوئي في البكتريا ولكن البكتريا التي تقوم بعملية التخليق الضوئي لها القدرة على تثبيت النتروجين (كما سيبحث في فصل اخر) ان هذه الصفة غير موجودة في النباتات الخضراء .

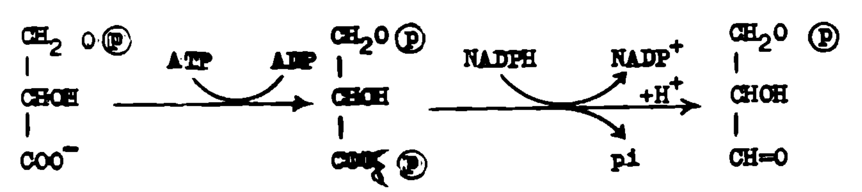
٢ ـ تفاعلات الظلام :

يتم تثبيت ثاني اوكسيد الكربون بتفاعله مع رايبلوز ١-٥ ثاني الفوسفات 1,5 RIBULOSE DIPHOSPHATE وبمساعدة الانزيم كاربوكسيد يسميوتيز Carboxidismutase مكوناً بذلك جزيئتين من فوسفات الكليسرول 3-PHOSPHOGLYCEROLE



Ribulose 1.5 Diphosphate

ان فوسفات الكليسرول المتكون تختزل في سلسلة من تفاعلات تعتمد على الطاقة المتوفرة في ATP كما يلي



DIPHOSPHOGLYCERATE GLYCERALDEHYDE

3-PHOSPHATE 1-3

ان جزيئة ثاني اوكسيد الكربون هذه تم تثبيتها باستهلاك جزيئين من ATP وجزيئتين من NADPH . بعد ذلك تحصل على سلسلة من التحولات في السكر الثلاثي وبمساعدة انزيمي ترانسكيتوليز TRANSKETOLASE وترانسالدوليز TRANSALDOLASE التي تؤدي الى اعادة تكوين رابيلو ١,٥ ثنائي الفوسفات (باستهلاك ATP واحدة) ان لكل ثلاثة جزيئات من ثاني اوكسيد الكربون التي تتثبت تصرف ستة جزيئات من NADPH وتسعة من ATP ليتكون جزيئي واحد من كليسر الدهايد ثلاثي الفوسفات 3- PHOSPHOGLYCERATE .

ان تثبيت غاز ثاني اوكسيد الكربون في ذاتية التغذية الضوئية والتي يكون فيها غاز ثاني اوكسيد الكربون المصدر الوحيد للكربون يتم عن طريق دورة تدعي بدورة كالفن والتي يتركب فيها سكر سداسي كليا من غاز اوكسيد الكربون كما سيأتي ذكره بالتفصيل في التخليق الحياتي من هذا الفصل .

الفصل الخامس

الجزء الثاني

التخليق الحياتي BIOSYNTHESIS

ان طرق الحصول على الطاقة في الاحياء المجهرية متعددة وذلك لاختلاف طرق التغذية فيها حسبما جاء في الفصل الاول ولكننا نجد بانه مهما تعددت واختلفت تلك الطرق فأن جميع الفعاليات الحيوية التي تحصل بواسطتها هذه الاحياء على الطاقة تؤدي الى نتيجة واحدة هي تحرر ATP . في هذا الجزء من الفصل الخامس سنبحث استخدام هذه الوسيلة ATP في عمليات بناء تراكيب الخلية او جسم الكائن المجهري الحي ولكن يجب علينا ان لاننسى بان الفعاليات التي تؤدي الى تحرر الطاقة (والتي تم بحثها في الجزء الاول من الفصل الحالي) تجري آنيا مع الفعاليات التي تستخدم تلك الطاقة علماً بانه يوجد كمية قليلة جداً (١٠ مايكرومول/ غم من وزن الجسم الجاف للكائن المجهري) من الطاقة في ATP كخزين في جميع الاوقات . ان النتيجة الموحدة لطرق الحصول على الطاقة وتوفرها في ATP يؤدي ايضا الى توحيد اهم حصيلة في عمليات البناء وهي تكوين البروتين والاحماض النووية وقد توجد بعض التراكيب الاخرى التي تختلف بين مجموعة واخرى من الاحياء ولكن المادة الاهم والاساسية هي واحدة وطرق تخليقها لاتختلف كثيرا عن مجاميع الاحياء المجهرية ان الاختلاف في طرق تخليق التراكيب الاخرى ينتج عن اختلاف التركيب الكيمياوي لهذه التراكيب ويعتبر ذلك التركيب الكيمياوي خاص بالنسبة للمجموعة الواحدة ويمكن تفريق مجاميع الاحياء المجهرية بالنسبة لهذه الاختلافات .

المواد الاولية للتخليق الحياتي :

من متطلبات التخليق الحياتي لمختلف تراكيب الخلية (اضافة الى الطاقة) وجود كميات كافية من الوحدات الاساسية للبناء مثل السكريات المختلفة والاحماض الامينية ونظرا لتعدد انواع هذه الوحدات البنائية وتعدد مصادر الحصول عليها سنحاول في هذا الفصل ربط النقاط الاساسية المشتركة في عمليات البناء . من اهم الوحدات الوسطى التي تعتبر العمود الفقرى لتخليق المركبات

الكربونيـــة في الخليـــة هي فوسفـــات السكريـــات SUGAR PHOSPHATE والبروفيت PYRUVATE والسكسينات SUCCINATES والفاكيتوكلوتريت a-KETOGLUTARATE كما وان عدد عمليات التخليق الحياتي التي تؤدي الى تكوين هذه الوحدات الوسط هي اقل بكثير من عدد المواد التي يمكن تصنيعها من هذه الوحدات . ان بعض هذه المركبات الوسط تدخل كجزء من دورة الاحماض ثلاثية الكربوكسيل TRICARBOXYLIC - ACID CYCLE التي تعتبر واحدة من اهم الدورات في عمليات تحرر الطاقة والتي ستبحث في فصل اخر . ولذلك فان المركبات التي تشترك في هذه الدورة اذا ما استنفذت في عمليات بنائية فأن الدورة ستتوقف اذا لم يعوض هذا النقص بواسطة اخرى وهي عمليات تخليق اخرى . لقد وجد ان الاحياء المجهرية تمك قابلية كبيرة تمكنها من ضمان تعويض النقص الحاصل في المركبات الوسط التي تدخل في تلك الدورة . ان من اهم طرق التعويض لتلك الدورة والتي تستخدم من قبل العديد من الاحياء المجهرية سواء اكانت ذاتية ام عضوية التغذية هي عملية تثبيت غاز ثاني اوكسيد الكربون اذ يتم تثبيت هذا الغاز في عضوية التغذية بتفاعله مع جزيئة عضوية تدعي بمستلم غاز ثاني اوكسيد الكربون وهذه المادة العضوية لاتتخلق من غاز ثاني اوكسيد الكربون . ان الكربون الذي يكون مصدره غاز ثاني اوكسيد الكربون قليل اذا قيس بالنسبة للكربون الموجود في الخلية والذي بمصدره مواد عضوية ولكن هذا الكربون يدخل دورة الاحماض ثلاثية الكربوكسيل عن طريقين هما استيل اس كواى Acetyl-S-Coa او عن طريق اوكزالواستيت Oxaloacetate كما في الشكل (٣١)

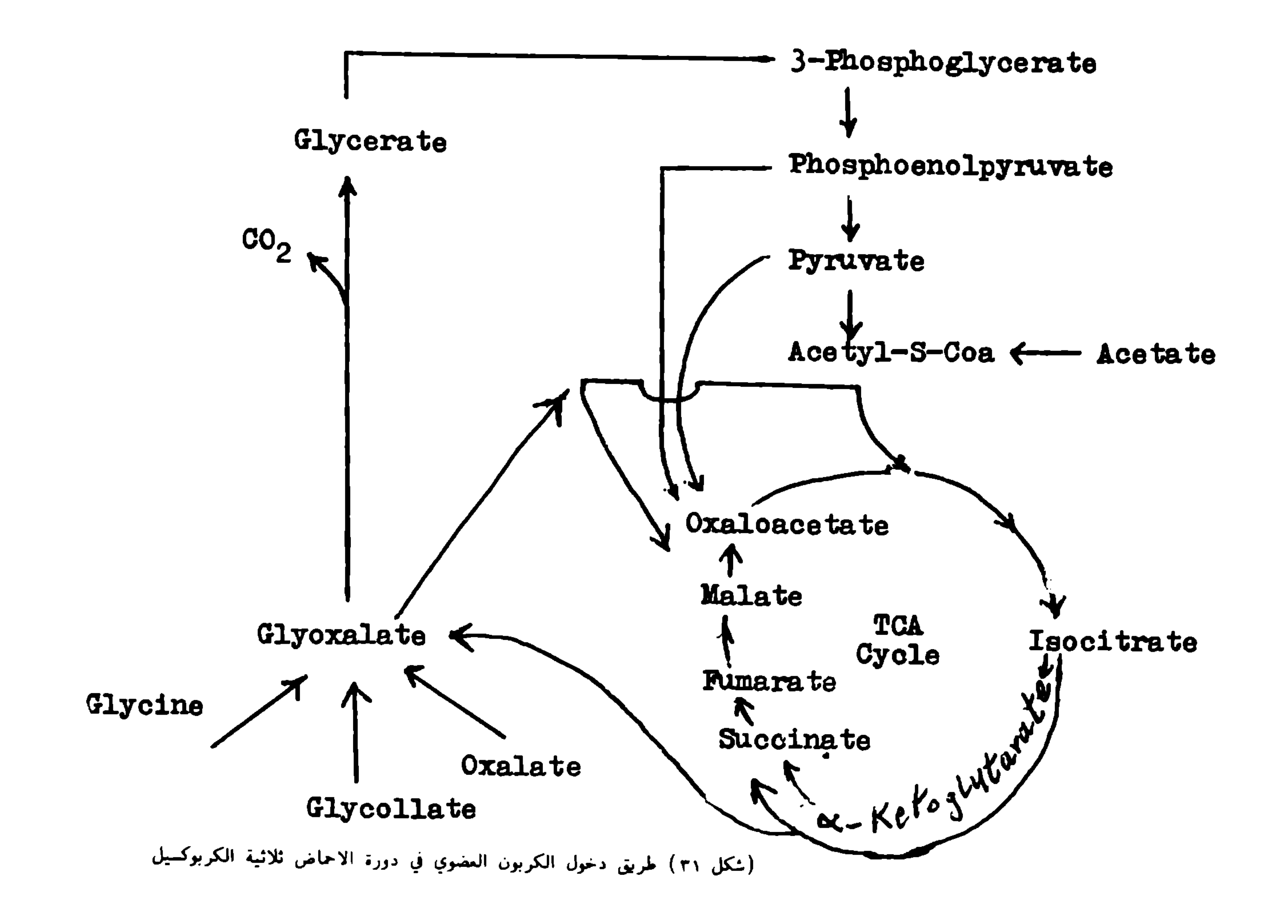
اما تثبيت غاز ثاني اوكسيد الكربون فيكون بتفاعله من المادة العضوية بيروفيت Pruvate (مستلم الغاز) او مع الفوسفواينول برفيت Phosphanol Pyruvate لتكوين اكزالواسيتيت كالاتي :

$$\begin{array}{l} CH_3 \\ C{=}O \\ COOH \end{array} + CO_2 + ATP \longrightarrow \begin{array}{l} COOH \\ CH_2 \\ C{=}O \\ COOH \end{array} + ADP + Pi$$

بايروفيت — اوكز الواستيت

$$\begin{array}{l} CH_2 \\ C - O \quad P \\ COOH \end{array} + CO_2 \longrightarrow \begin{array}{l} COOH \\ CH_2 \\ C = O \\ COOH \end{array} + Pi$$

فوسفواينول بايروفيت



(شكل ٣١) طريق دخول الكربون العضوي في دورة الاحماض ثلاثية الكربوكسيل

ان هذين التفاعلين يتطلبان تواجد البيروفيت والفوسفواينول بيروفيت بصورة مستمرة كي يتم بموجبها تعويـــض المواد الوسط في دورة الاحماض ثـــلاثيـــة الكربوكسيل .٠ولقد وجد في الاحياء الجهرية اللاهوائية المضطرة مثل كلوستريديوم كلوفيري Clostridium kloyveri ان البيروفيت تعوض عن طريق تثبيت غاز ثاني اوكسيد الكربون تحت ظروف مختزلة من استيل – اس – كواي كالاتي :

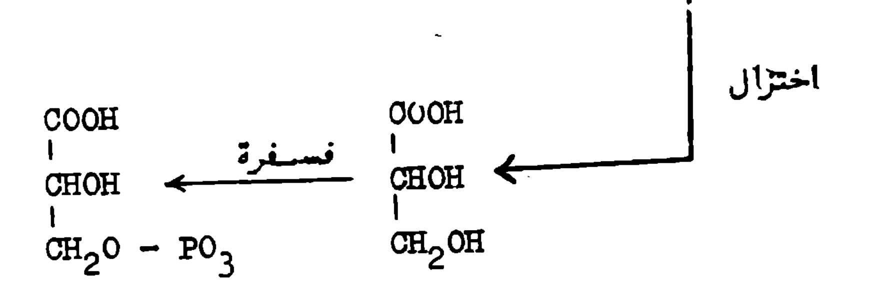
$$CH_3 - \overset{O}{\overset{||}{C}} - S - COA + CO_2 + 2H \longrightarrow CH_3 - \overset{O}{\overset{||}{C}} - COOH + COA.\,SH$$

اما في الاحياء الجهرية الهوائية فأن تفاعل ثاني اوكسيد الكاربون لايتم عن هذا الطريق بل بطرق اخرى تعتمد على المصدر الكربوني الوحيد الموجود في الوسط الزرعي فمثلا اذا كان المصدر الكربوني الوحيد هي الخلات (Acetate) فأن هذه الاحياء الهوائية تعوض الفوسفواينول بيروفيت عن طريق دورة اخرى تدعى دورة الكلايكوزيليت Glycoxalate Cycle وذلك بتكوين الكلايوزاليت اولا من الايسوستريت Isocitrate ثم بتفاعل الكلايوكزاليت مع استيل اس كواي لتكوين الماليت Malate وهي احدى المواد الوسط في دورة الاحماض ثلاثية الكربوكسيل . اما اذا كان المصدر الكربوني الوحيد في الوسط غير الخلات مثل مركب الاوكزالات Oxalate او الحامض الاميني الكلايسين Glycine او الكلايكوليت Glycollate عندئذ تتحول جميع هذه المركبات الى كلايوكزاليت ثم الى كليسريت ثم الى فوسفات الكليسرين كالاتي :

$$2\ CHO\ \ COOH \longrightarrow CHO \cdot CHOH - COOH + CO_2$$

كليوكزاليـــت — تارترونيك ســمي الدهايد

Glyoxalate — Tartronic Semi Alohyde



3-phosphoglycerate — glycerate

وفوسفات الكليسيرين — كليسرات

اما في الاحياء المجهرية ذاتية التغذية (ضوئية وكمياوية) سواء اكانت حقيقية ام بدائية النواة والتي يكون غاز ثاني اوكسيد الكربون فيها هي المصدر الوحيد للكربون فيتم تثبيت هذا الغاز لتعويض مركبات الوسط في دورة الاحماض ثلاثية الكربوكسيل عن طريق دورة اخرى تدعى دورة كالفن Calvin Cycle والتي فيها تركيب سكر سداسي كليا من ثاني اوكسيد الكربون كما ويتم تحويل ١٨ جزئية من ATP الى ADP ، ١٢ جزئية من $NADPH_2$ تتحول الى NADP لكل جزئية من السكر التي تتكون كما في الشكل (٣٢).

6ATP

$6CO_2$

ربيولوزثنائي الفوسفات 6 ← 12 حامض الفوسفوكليسريك

ربيولوز احادي الفوسفات 6 ← 12 تريوز فوسفات

هكزوز (فركتوز) فوسفات 1

شكل (٣٢) يبين تخليق سكر سداسي من تثبيت ثاني اوكسيد الكربون بواسطة احياء مجهرية ذاتية التغذية (ضوئية وكيمائية)

يمكن تقسيم هذه الدورة الى ثلاثة انواع من التفاعلات :

(أ) تخليق ريبلوز ١ ، ٥ ثنائي الفوسفات. (Ribulose 1,5-Diphosphate)

من ربيولوز خامس الفوسفات Ribulose 5-Phosphate بوجود ATP كالاتي :

$$\begin{array}{c} CH_2OH \\ | \\ C=O \\ | \\ (CHOH)_2 \\ | \\ CH_2O\ P \end{array} \xrightarrow{ATP \to ADP} \begin{array}{c} {}_2 - O - P \\ \\ C=O \\ | \\ (CHOH)_2 \\ | \\ CH_2O\ P \end{array}$$

ريبلوز خامس الفوسفات — رايبوزثنائي الفوسفات

يعمل رايبلوز ثنائي الفوسفات كمستلم لغاز ثاني اوكسيد الكربون لتخليق جزيئتين من فوسفات حامض الغليسريك (3-Phosphoglyceric acid) كالاتي :

$$\begin{array}{c} CH_2-O-(P) \\ | \\ C=O \\ | \\ (CHOH)_2 \\ | \\ CH_2-O-(P) \end{array} + CO_2 \longrightarrow \begin{array}{c} CH_2-O-(P) \\ | \\ CHOH \\ | \\ COO^- \\ + \\ COO^- \\ | \\ CHOH \\ | \\ CH_2-O-(P) \end{array}$$

3-Phosphoglycerate

لهاتين العمليتين يوجد انزيمان متخصصان اولهما فوسفوربيولوكاينيز Phosphoriulokinase الذي يساعد على اضافة جذر الفوسفات الى ريبيولوز خامس الفوسفات والثاني هو ربيولوز كاربوسيليز ثنائي الفوسفات Ribulose Diphosphphate Carboxylase الذي يساعد التفاعل الثاني الذي تتخلق فيه جزيئتين من فوسفات حامض الكليسريك . ان هاتين الجزيئتين قد تستعملان لتخليق البيروفايت .

ب ـ تحويل فوسفات حامض الكليسريك 3-Phosphoglyceric Acid الى فركتوز سادس الفوسفات Fructose-6-Phosphate ويتم ذلك بطريقة معكوسة لعملية تخمر سكر الكلوكوز كما يجري بحثه في الفصل السادس . ان عملية التخمر هذه والتي تدعى ايضا امدن مايرهوف Embden-Meyerhof هي احدى عمليات تحرر الطاقة لذلك فأن معكوسها يتطلب وجود مصدر للطاقة ويتم تحرر هذه الطاقة كالاتي :

$$\text{3-Phosphoglyceric Acid} + 2ATP + 2NADPH_2 \longrightarrow \text{Fructose-6-Phosphate} + 2ADP + 2Pi + 2NADP$$

جـ . اعادة تكوين ريبيولوز خامس الفوسفات وذلك بتحويل جزيئة واحدة من فركتوز سادس الفوسفات Fructose -6- Phosphate وثلاثة جزيئات من فوسفات سكر ثلاثي الى ثلاثة جزيئات فوسفات سكر خماسي

كالاتي ($C_6 + 3C_3 \longrightarrow 3C_5$)

Fructose -6- Phosphate + 2Glyceraldehyde -3- Phosphate + Dihydroxy - acetono Phosphate —— 3 Ribulose -5- Phosphate

ان هذا التفاعل لايحدث بصورة مباشرة ولكن يحدث بواسطة ستة تفاعلات منفصلة هي :

١ ـ تفاعل فركتوز سادس الفوسفات مع كليسر الدهايد ثالث الفوسفات لينتج سكر الاريثروز رابع الفوسفات وزليلوز خامس الفوسفات حسب المعادلة التالية :

Fructose -6- Phosphate + Glyceraldehyde -3- Phosphate ⇌ Erythrosc -4- Phosphate + Xylulose -5- Phosphate

٢ ـ تفاعل سكر الاريثروز رابع الفوسفات مع فوسفات الاسيتون ثنائي الهيدروكسيل لينتج سيدوهبتيولوز ثنائي الفوسفات :

Erythrose -4- Phosphate + Dihydroxyacetone Phosphate ⇌
Sedoheptulose -1̂67- diphosphate

٣ ـ تحلل سيدوهيتبيولوز ثنائي الفوسفات المائي لتحرير فوسفات غير عضوية :

Sedoheptulose -1' 7- Diphosphate + H_2O —— Sedoheptulose -7- phosphate + Pi

٤ ـ تفاعل سيدوهيتبيلوز سابع الفوسفات مع كليسر الدهايد ثالث الفوسفات لينتج ريبوز خامس الفوسفات وزيالسفد خامس الفوسفات :

Sedoheptulose -7- Phosphate + Glyceraldehyde -3- Phosphate
⇌ Ribose -5- Phosphate + Xylulose -5-. Phosphate

٥ ـ تحول بين زيللوز خامس الفوسفات وريبلوز خامس الفوسفات وريبوز خامس الفوسفات

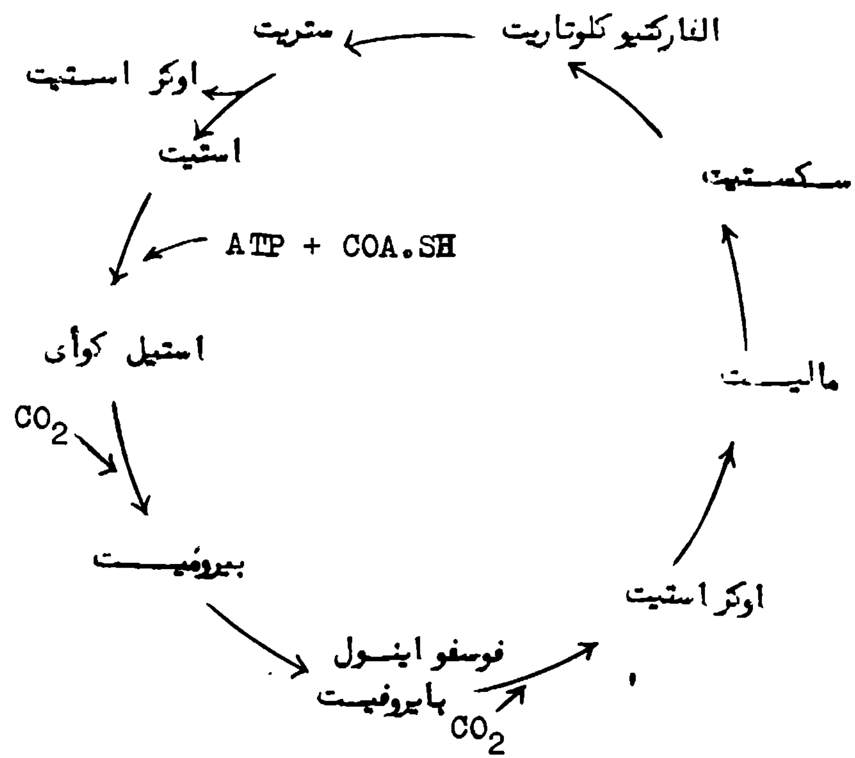
Xylulose -5- Phosphate ⇌ Ribulose -5- Phosphate

٦ ـ تحول ريبوز خامس الفوسفات الى ريبلوز خامس الفوسفات

Ribulose -5- Phosphate ⇌ Ribose -5- Phosphate

ان الريبيولوز خامس الفوسفات يرتبط مع تفاعلات تكوين الاحماض النووية كما سيجرى بحثه قريبا كما وان تفاعل (ب) اعلاه منتشر بايولوجيا لذلك لايعتبر هذان التفاعلان مختصان بذاتية التغذية . اما التفاعلين ا (أ) منها مختصان بذاتية التغذية التي تستخدم ثاني اوكسيد الكربون كمصدر وحيد للكربون لذلك فان وجود الانزيين المتخصصين في تفاعلي (أ) كما سبق يميزان تفاعلات الايض في ذاتية التغذية (ضوئية او كيمياوية) عنها في عضوية التغذية . في البكتريا ضوئية التغذية مثل كلوروبيوم ثيوسلفاتوفيلم Chlorobium Thiosulphatophilum وغيرها من البكتريا اللاهوائية لايثبت غاز ثاني اوكيسد الكربون عن طريق دورة كالفن بل عن طريق دورة اخرى تدعى دورة الاستيل كواي (Acetyl -CoA Pathway) التي تشمل معكوس بعض التفاعلات التي تحدث في دورة الاحماض ثلاثية الكربوكسيل ، ففي هذه الدورة تتخلق جزيئة واحدة من اوكسالواسيتيت Oxaloacetate من اربعة جزيئات من غاز ثاني اوكسيد الكربون واعادة تكوين مستلم الغاز (استيل كواي) الاول كما في الشكل (٣٣) التالي :

ان دورة كالفن لاتحصل في الاحياء المجهرية التي تنمو على مركبات حاوية على ذرة كربون واحدة (كمصدر وحيد للكربون) بحالة مختزلة مثل الفورميت Formate او الميثان Methane او ابينها من المركبات. فهذه الاحياء (ماعدا البكتريا بزودومونس اكوزالاتيكس **Pseudomonas oxalaticus**) يمكنها ان تبني ذرة الكربون هذه في مركبات عضوية خلال دورة اخرى تعرف بطريق سيرين



شكل (٣٣) يوضح دورة استيل كواي لتثبيت غاز ثاني اوكسيد الكربون (حذفت بعض التفاعلات الوسط من هذه الدورة لاختصارها .

Serine Pathway وّالتي تتكون فيها الفوسفوكليسرات 3-Phosphoglycerate من هذه المركبات والاخيرة تدخل في عمليات التخليق الكيمياوي المختلفة .

١ ـ **تخليق الاحماض النووية** : لقد بحثت انفا عمليات تخليق الوحدات الاساسية لبناء المركبات الهامة في الخلية . ان من اهم هذه المركبات هي الاحماض النووية بنوعيها الرايبوزي اللاوكسجيني (DNA) والريبوزي (RNA) ان وظيفة الحامض النووي ثنائي اوكسيد الريبوزي هي حمل شفرة خاصة بالتعليمات التي تتم بواسطتها تسيير وتوجيه الفعاليات الحيوية في الخلية فهو المشرع للقوانين والانظمة التي تسير بموجبها تلك الفعاليات . اما الحامض النووي الريبوزي فيعتبر منفذاً لتلك الانظمة والقوانين وذلك بنقل تلك المعلومات وترجمتها الى بروتين . ان تخصص الحامض النووي يعتمد على ترتيب القواعد النووية في الحامض وهذه توجد بنوعين الاول البيورين Purine والثاني البريميدين Pyrimidine .

ان المواد الاولية التي تصنع منها الحوامض النووية هي النيوكليوتايد Nucleotide وهي عبارة عن قاعدة (اما من النوع البيورين او البريميدين) متصلة بواسطة احدى ذرات النيتروجين الموجود فيها مع فوسفات سكر خماسي بواسطة اصرة تدعى كلايكوسيديك Glycosidic Bond فأذا كان السكر لايحتوي على فوسفات عندئذ يدعى بالنيوكليوسايد . وهو لايلعب دورا في عمليات التخليق الحياتي وعادة يفسفر قبل دخوله في تلك العمليات . فالينوكليوتايد الحاوية على مجموعة فوسفات واحدة تدعى ينوكليوتايد احاوية الفوسفات (Nucleotide Monophosphate NMP) والتي تحتوي على مجموعتين من الفوسفات تدعى ينوكليوتايد ثنائية الفوسفات (Nucleotide Diphosphate NDP) والتي تحتوي على ثلاثة تدعى نيوكليوتايد ثلاثية الفوسفات (Nucleotide Triphosphate NTP) فالينوكليوتايد الحاوية على القاعدة ادينوسين تدعى ادينوسين نيوكليوتايد وهذه يمكن ان تحتوي على مجموعة فوسفات واحدة او على مجموعتين او ثلاثة وتدعى حينئذ بادينوسين احاوية ، ثنائية او ثلاثية الفوسفات ويرمز لها بالرموز (AMP, ADP, ATP) على التوالي .

ان الاواصر الواقعة بين مجموعة الفوسفات والسكر لاتحتوي على طاقة بكميات متساوية فالاصرة الاولى التي تحدث بين السكر والفوسفات اي في (NMP) لاتحتوي على كمية طاقة عالية اما الأصرتان الاخريان فهما تحتويان طاقة عالية في اصرة او أصرتين على التوالي :

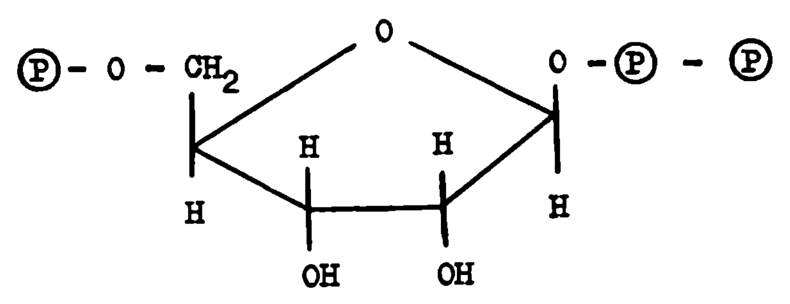
اما السكر الذي يدخل في تركيب الينوكليوتايد فيختلف تبعا للحامض النووي ، ففي الحامض النووي الرايبوزي (RNA) يدخل سكر الريبوز Ribose في تركيبه اما الحامض النووي الرايبوزي اللاوكسجيني (DNA) فيدخل في تركيبه سكر خماسي مختزل هو ديوكسيريبوز Deoxyribose

ان الديوكسيرايبو نيوكليوتايد اذاً تخلق من الريبو نيوكليوتايد ويعتبر منشأ الحامضين النوويان واحدا . ان للريبونيوكليوتايد اهمية كبيرة في الخلية لقيامها بفعاليات اخرى عدا كونها منشأ للحامض النووي الديوكسيرايبوزي فهي تدخل في تركيب مرافقات الانزيمات Coenzymes مثل فلافين ادينين داي نيوكليوتايد Flavin Adenine Dinucleotide (FAD) وينكوتينمايد ادينين دينيوكليوتايد Nicotinamibe Adenine Dinucleotide (NAP) ومرافق الانزيم A (Coenzyms A) وكمركب يحمل طاقة عالية مثل (ATP) وكواسطة لنقل مجاميع مثل السكر والاحماض الامينية عند عمليات التخليق المختلفة في الخلية ولذلك فعند تخليق اية نيوكليوتايد يجب تخليق جزئيها السكر والقاعدة . ان فوسفات السكر الموجودة في جميع انواع النيوكليوتايد مشتق من نفس المصدر وهو الريبوز

خامس الفوسفات Ribose -5-Phosphate وذلك بفسفرته بواسطة ATP لتكوين سكر الريبوز المتعدد الفوسفات Phosphoribosyl - Pyrophosphate الذي يرمز له بـ (PRPP) وكما يلي

Ribose -5- Phosphate + ATP ———— PRPP + AMP

ان تركيب الريبوز المتعدد الفوسفات يكون كما يلي : -



أ ـ تمثل P مجموعة الفوسفات

ان سكر الريبوز المتعدد الفوسفات (PRPP) يعتبر نقطة البداية لتكوين النيوكليوتايد ، ويضاف الى هذا السكر بعد ذلك القواعد النووية بنوعيها البيورين وهي على شكلين الكوانين Guanine والادينين Adinine والبريميدين Pyrmidine وهي ثلاثة اشكال اليوراسيل Uracil والسيتوسين Cytosine والثايمين Thymine كما في الشكل (٣٤)

ان اضافة القواعد الى السكر المتعدد الفوسفات (PRPP) يكون بشكلين الاول لتكوين النيوكليوتايد الحاوية على القواعد من نوع البيورين ويكون بتخليق حلقة البيورين وهي متصلة مع فوسفات السكر الخماسي كما في شكل (٣٥) والثاني هو تخليق البيريميدين نيوكليوتايد ويتم ذلك بتخليق حلقة القاعدة من نوع البيريميدين اولا ثم تفاعلها مع السكر الخماسي المتعدد الفوسفات كما في شكل (٣٦) .

ان تخليق النيوكليوتايد من نوع البيورين يكون بنقل مجموعة الامين الموجودة الكلوتامين Glutamine الى سكر الريبوز المتعدد الفوسفات كما في شكل (٣٥) . اما الكلوتامين فهو يتخلق من احد مركبات الوسط في دورة الاحماض الثلاثية الكربوكسيل وهو حامض الالفاكيتوكلوتاريك (α -Ketglutaric acid) (وذلك بتكوين حامض الكلوتاميك او كما يلي :

$$HOOC-(CH_2)_2-CO-COOH + NH_3 + NADH_2 \longrightarrow$$

$$HOOC-(CH_2)_2 CHNH_2-COOH + NAD + H_2O$$

$$\xrightarrow[ADP + Pi]{ATP} \quad + NH_3$$

$$HOOC-(CH_2)_2-CHNH_2-CONH_2 + H_2O$$

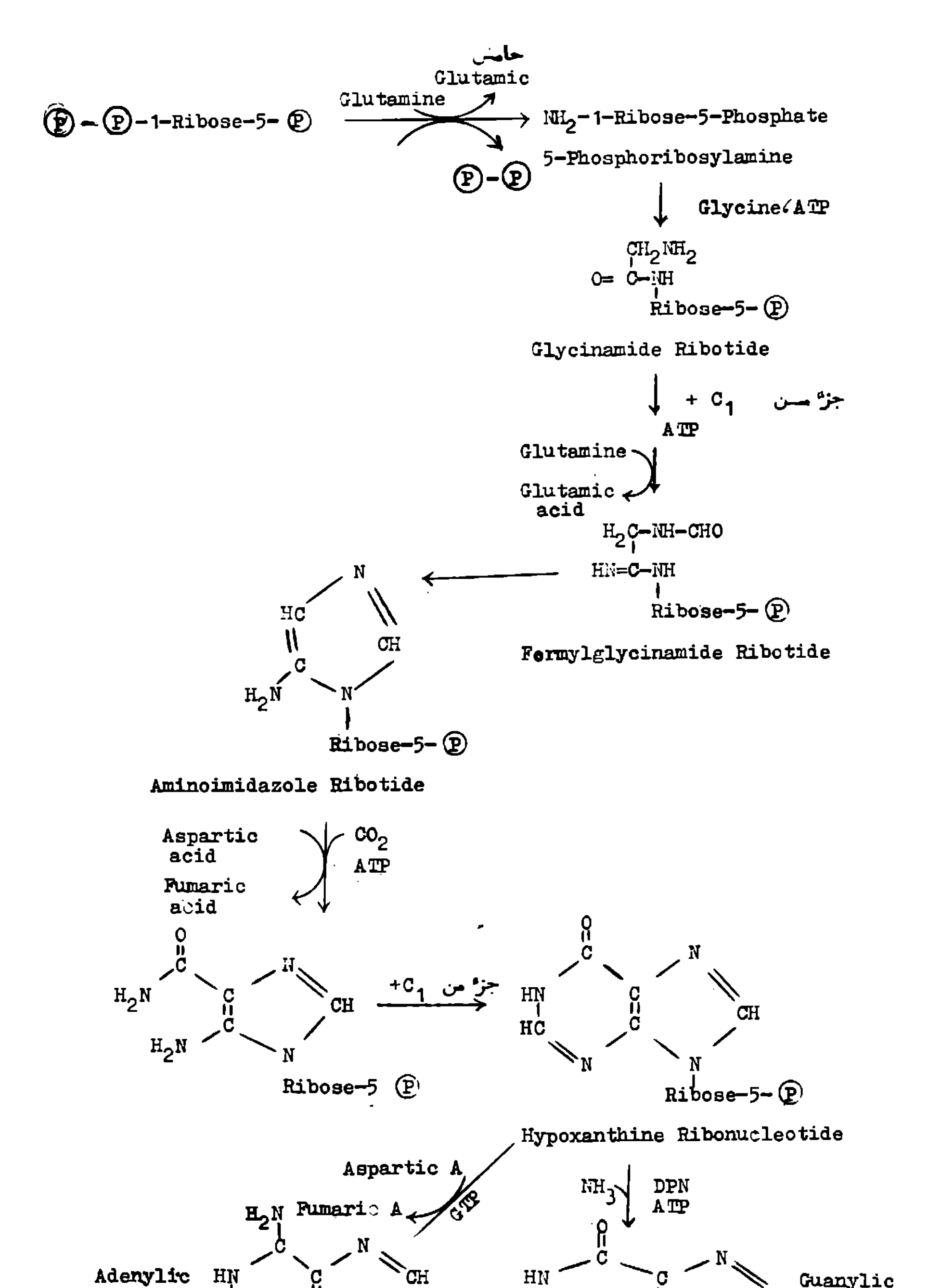
كلوتامين

ان مركب الهايبوزانثين ريبونيوكليوتايد Hypoxanthine Ribonucleotide يعتبر البداية لتكوين كل من الادينوسين الاحادي الفوسفات (AMP) والكوانوسين الاحـــادي الفوسفـــات (GMP) بعمليـــات فسفرة لهـــذين المركبـــين الاخـــيرين GMP, AMP يتم تحويلها الى ثواني الحامض النووي الرايبوزي هما الادينوسين الثلاثي الفوسفات (ATP) والكوانوسين الثلاثي الفوسفات (GTP) اما تخليق الينوكليوتايد من نوع البريميدين فيكون بتكثيف حامض اميني هو الاسبارتيك Aspartic مع فوسفات الكاربامايل (Carbamyl Phosphate كما في الشكل (٣٦) يتم غلق الحلقة بازالة جزيئة ماء لتكوين حامض الاوروتيك ثنائي الماء (Dihydroorotic Acid) الذي يختزل الى الاوروتات (Orotate) . ثم تتحد هذه مع السكر الخماسي متعدد الفوسفات وبعد ازالة مجموعتين من الفوسفات لتكوين اليوردين احادي الفوسفات . (Uridine Monophosphate) وبعمليات فسفرة اخرى تتكون اليوردين ثلاثية الفوسفات (UTP) . يضاف الى الاخيرة مجموعة امونيا لتنتج الساتيدين ثلاثي الفوسفات (CTP) .

ان المركبات التي يتخلق منها الحامض النووي الديوكسيرايبوزي هو سكر الرايبوز المختزل والقواعد الادينوسين ، الغوانين ، الساتيدين والتايمدين . يحصل اختزال السكر عندما يكون ثنائي الفوسفات وكما يلي :

القواعد النتروجينية	
البريميدين	البيورين
يوراسيل	كوانين
سايتوسين	ادنين
ثايمين	

شكل (٣٤) يوضح التركيب الاساسي للقواعد من نوع البيورين Purine والبريميدين Pyrimidine في الحامضين النوويين DNA, RNA



شكل (٣٥) يوضح تخليق البيورين نيوكليوتايد

حامض الكلوتاميك
Glutamic acid

الكلوتامين
Glutamine

CO_2 → NH_2COO- Ⓟ (ATP → ADP)

فوسفات الكارباميل

حامض الاسبارتيك
Aspartic acid → Pi

كارباميل حامض الاسبارتيك

$-H_2O$

حامض الاوروتيك الثنائي المائية
Dihydroorotic acid

-2H

حامض الاوروتيك
Orotic acid

سكر الرايبوز المتعدد الفوسفات
5-Phosphoribosyl - Pyrophosphate

Ⓟ - Ⓟ

Ribose-5- Ⓟ

$-CO_2$

Ribose-5- Ⓟ

حامض اليوريديليك
Uridylic acid

ATP → AMP

Ribose-5- Ⓟ - Ⓟ - Ⓟ

يوريدين ثلاثي الفوسفات
Uridine TRI Ⓟ
(UTP)

NH_3
ATP

Ribose- Ⓟ - Ⓟ - Ⓟ

سايتيدين ثلاثي الفوسفات
Cytidine TRI Ⓟ
(CTP)

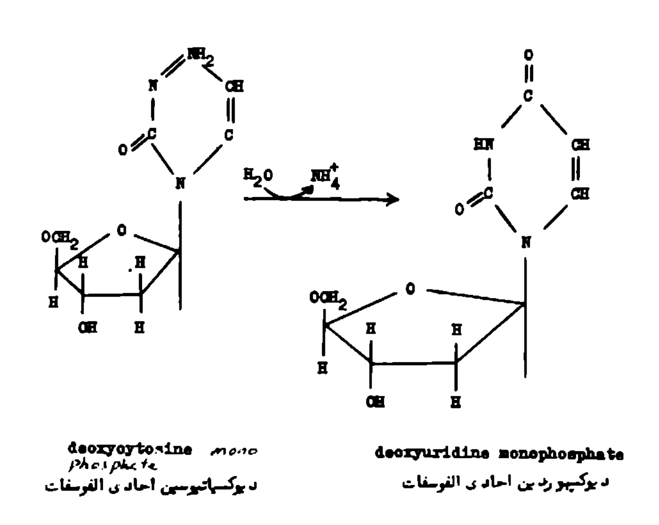
شكل (٣٦) يوضح تخليق نيوكليوتايد من نوع البريميدين

Ⓟ -O- CH_2 (O, R; H H; OH OH) + $NADPH_2$ ⟶ Ⓟ-O -CH_2 (O, R; H H; OH H)

$+ H_2O + NADP$

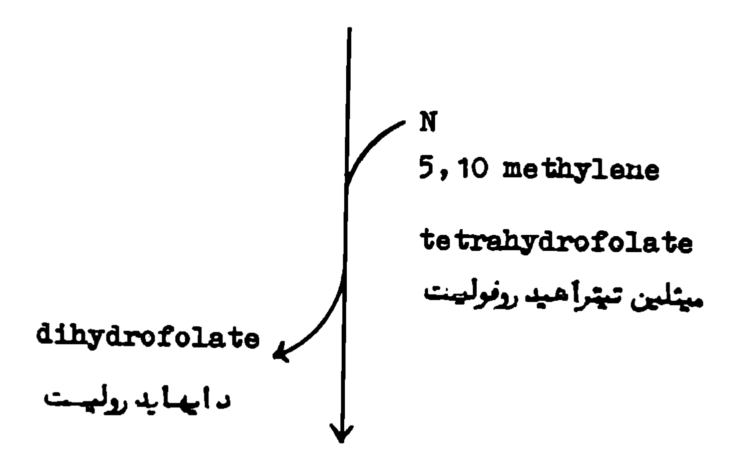
R = القاعدة المتصلة بالسكر

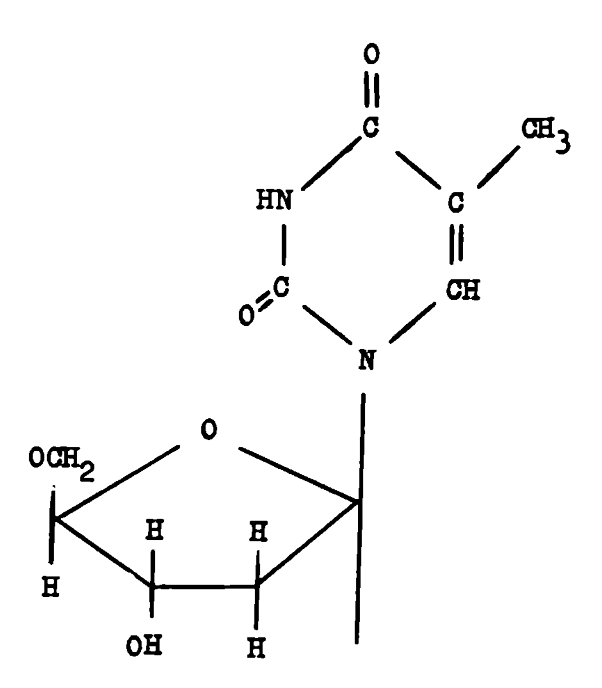
سبق وان ذكرنا طرق تخليق النيوكليوتايد الادينوسين ثلاثي الفوسفات والغوانوسين ثلاثي الفوسفات والسايتوسين ثلاثي الفوسفات اما الرابعة وهي الثايميدين ثلاثية الفوسفات فيتم تخليقها من خلال عدة تفاعلات يتم بواسطتها تحويل النيوكليوتايد الحاوية على القاعدة سايتدين الى الثايميدين وذلك بتكوين اليوردين اولا وكمادة وسطة وكالاتي :



deoxycytosine mono phosphate
ديوكسياتيوسين احادي الفوسفات

deoxyuridine monophosphate
ديوكسيبوردين احادي الفوسفات





deoxythymidine monophosphate

ديوكسيثايميدين احادي الفوسفات

شكل (٣٧) يبين تخليق ديوكسيثايميدين احادي الفوسفات

ان مركـــب $N_{5,10}$ methylenetetrahydrofolate لــه فعــلان الاول هو كمعطي لكربون (Carbon Donor) والثاني كعامل مختزل (Reducing Agent) . ان ديهايدروفوليت Dihydrofolate المتكونة تختزل مرة ثانية بواسطة NADPH وبمساعـــدة انزيم هيـــدروفوليـــت ديهـــايـــدروجنـــيز Hydrofolate Dehydrogenase لتعود مرة ثانية الى اصلها .

التخليق النهائي للاحماض النووية

ان الينوكليوتايد المخلقة في الاحياء المجهرية تتبلمر Polymerised لتكوين الحامضين النووين الديوكسيرايبوزي والرايبوزي وذلك بتكوين اواصر من النوع الفسفور ثنائية الاستر Phosphodiester بن الكاربون الثالث والخامس من جزيئتين من السكر متعاقبتين والبعض منها يتبلمر ليكون مساعدت انزيمات Coenzymes .

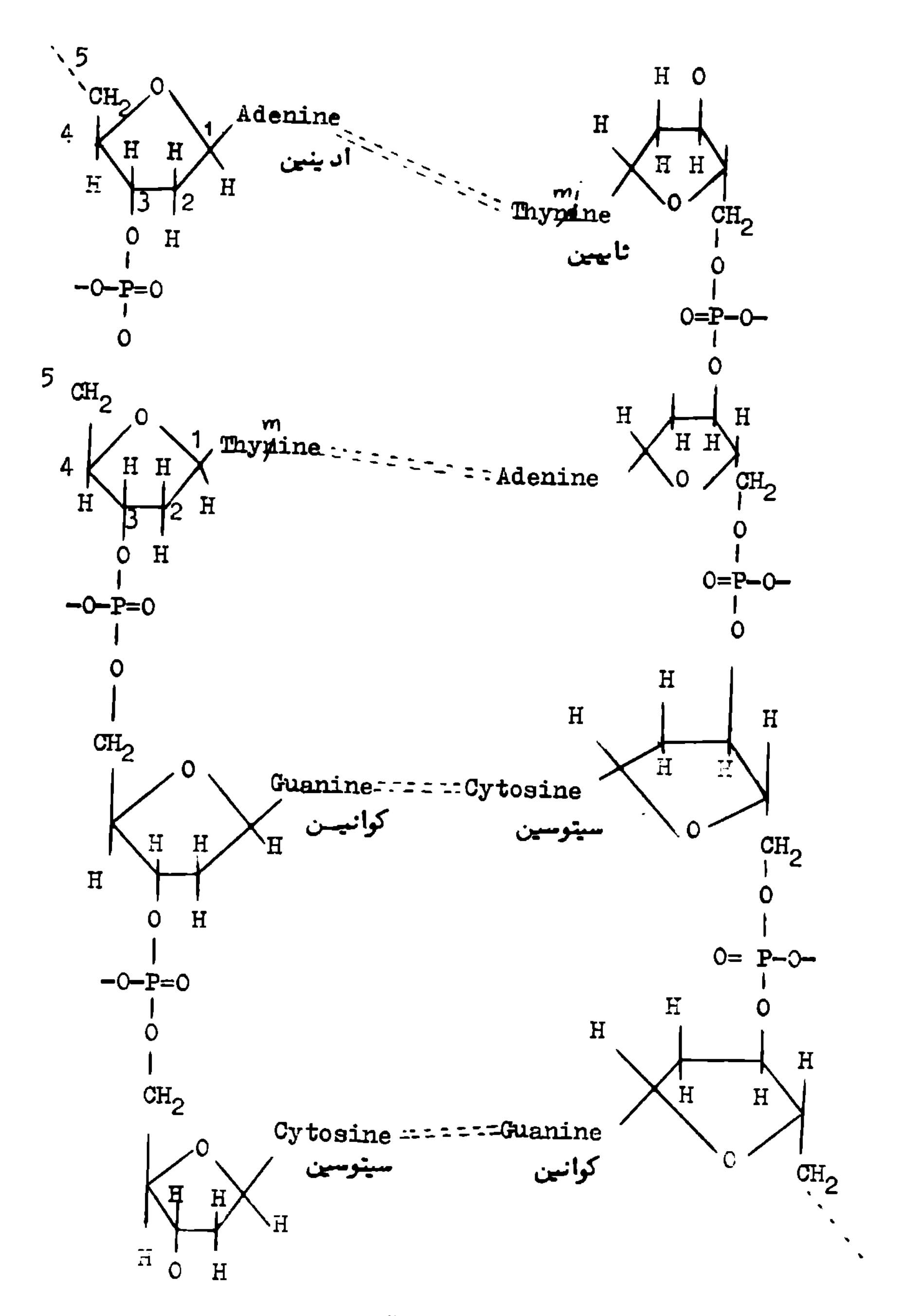
تخليق الحامض النووي DNA :

يتكون هذا الحامض من سلسلتين غير متفرعتين من النيوكليوتايد ملتفتين حول بعضهما لتكوين حلزون ثنائي الشريط ، يتصل الشريطان الحلزونيان مع بعضهما باواصر هيدروجينية بين كل زوج من القواعد . يكون هذا الاتصال عادة بين القاعدتين ادينين من الشريط الاول والثايمين من الشريط الثاني والكوانين من الاول والسيتوسين من الثاني كما في الشكل (٣٨) وهكذا تكون جزيئة الحامض على شكل سلسلة متتابعة من ازواج القواعد مرتبة ترتيبا خاصا وهي المعلومات او الرسائل الوراثية التي تحدد تكوين ووظيفة التراكيب المختلفة في الخلية .

عند تخليق الحامض النووي الجديد في عملية انقسام الخلية ينفصل الشريطان عن بعضها اولا وكل شريط يعمل كختم Template ليتم عملية تكوين الشريط الجديد وبمساعدة انزيم مبلمر (DNA Polymerase) ان تسلسل القواعد في الشريط الجديد يتم بواسطة الاواصر الهيدروجينية وابعادها حيث ان الطريق الوحيد لتلك الاواصر هو حيثما يوجد الادينين يكون بعد او طول الاصرة الهيدروجينية بحيث تسمح للاتصال مع الثايمين فقط وحيثما يوجد الكوانين فأن طول الآصرة يسمح فقط للاتصال مع السايتوسين وهكذا بهذه الطريقة يتم ترتيب الاتصال بين القواعد في الشريط الجديد بحيث يستعيد الشريط نفس الترتيب السابق . فعند الانقسام يتكون حلزونان جديدان مماثلان للقديم كل منهما له شريطان متماثلان .

تخليق الحامض النووي RNA

يوجد ثلاثة انواع من الحامض النووي الرايبوزي الأول هو الرايبوسومي Ribosomal RNA ويرمز له بـ rRNA والناقل Transfer RNA ويرمز له بـ tRNA ويوجد في السايتوبلازم والرسول Messenger RNA ويرمز له بـ



شكل (٣٨) يوضح ترتيب القواعد في سلستي الحامض النووي

mRNA . ان جميع هذه الانواع هي صورة طبق الاصل لمناطق مختلفة من اشرطة الحامض النووي الديوكسيرايبوزي . ان تسلسل القواعد في الحامضين النوويين تكون الشفرة الخاصة بتخليق البروتين في الخلية وان توجيه تسلسل الاحماض الامينية في البروتين موجود على الحامض النووي الديوكسيرايبوزي وعملية التوجيه تشمل استنساخ Transcription وترجمة Translation هذه المعلومات . ان عملية النقل تعني ان الحامض النووي الديوكسيرا يبوزي يوجه تخليق الحامض النووي الرايبوزي وان المعلومات الوراثية الموجودة على DNA تنقل الى الحامض RNA . اما الترجمة فتعني تخليق الحامض rRNA و mRNA و tRNA ولكن معظم المعلومات الموجودة على الـ DNA توجه تخليق mRNA لذلك فأن الترجمة بصورة عامة تعني تخليق mRNA

ان تخليق RNA يكون بتخليق شريط من النيوكليوتايد مكملا في ترتيب قواعده لاحد الاشرطة من الحامض DNA اي بعملية النقل . ان فوسفات الرايبونيوكليوسايد تتصل ببعضها باواصر ثنائية الفسفور بين مجموعة هيدروكسيل من القاعدة الاولى على ذرة الكربون الثالثة ومجموعة فوسفات (5-3 Phosphodies-ter Linkage) من القاعدة الثانية المتصلة بذرة الكربون الخامسة .

(٢) تخليق البروتين

تتركب البروتينات من خليط من وحدات الاحماض الامينية (وهناك عشرون نوع منها) المختلفة مرتبة الواحدة تلو الاخرى . يكون ترتيب الاحماض الامينية هذه في البروتين حسب شفرة معينة توجد على قواعد الحامض الاميني DNA . ويحتمل وجود العشرين من هذه الاحماض الامينية في الوسط الزرعي عند نمو الاحياء المجهرية او وجود البعض منها ، فاذا كان الكائن الحي المجهري غير قادر على تخليق البعض الاخر عندئذ يجب توفره في المحيط على شكل فيتامين يضاف الى الزرع . اما في الاحياء المجهرية النامية في الاوساط الزرعية الحاوية على مصادر غير عضوية للنتروجين فانها يمكن ان تكون بعض او جميع هذه الاحماض من هذه المصادر . سيتم في هذا الفصل فقط ذكر عملية تموين Amination الاحماض الحاوية على جذر الكيتون بواسطة الامونيا وسيأتي بحث عملية تثبيت النتروجين اللاعضوي من المركبات العضوية في الخلية . ان تخليق تسع عشر من هذه الاحماض الامينية يحدث بطرق مختلفة ومتفرقة ومن مواد اولية قليلة العدد يمكن تقسيم الاحماض الامينية نسبة اليها كما في الجدول (٢) اما الحامض الاميني العشرين (المستدين) فهو يخلق بطريقة مختلفة .

جدول (٢) يوضح منشأ الاحماض الامينية واقسامها

العائلة	المادة الاولية	الاحماض الامينية التي تنشأ منها
١ ـ الكلوتاميت	الفا ـ كيتو ـ كلوتاريت الكلوتاميت	كلوتامين ارجنين برولين
٢ ـ الاسبارتيت	اوكزالوستيت ، اسبارتيت	اسبارجين ميثايونين الثريونين ، جزء من ايسوليوسين جزء من اللايسين (١)
٣ ـ الحلقية (الارومية)	اوثروز رابع الفوسفات + فوسفو اينول بايروفيت	فينل الانين (جزء) تايروسين (جزء) تربتوفان (جزء)
٤ ـ السيرين	ثالث فوسفات الكليسريت سيرين	تربتوفان (جزء) كلايسين سستين
٥ ـ البايروفيت	بارببروفيت	الانين فالين ليوسين
٦ ـ المستدين	فسفور رايبوسيل متعدد الفوسفات + ادينوسين ثلاثي الفوسفات	المستدين (جزء)

(١) راجع شرح تخليق اللايسين في الجاميع المختلفة للاحياء الجهرية

١ . عائلة الكلوتاميت :

ان المادة الاولية لهذه العائلة هي الفاكيتوكلوتاويت α-Ketoglutarate ولقد سبق ان شرحنا كيف يتكون الكلوتاميت والكلوتامين من الكلوتاريت عند بحث تخليق القواعد النووية من النوع البيورين . اما البرولين والارجنين من هذه العائلة فيتخلقان من الكلوتامين بطريق مختلف وكما مبين في شكل (٣٩) . عند تخليق الارجينين تضاف ذرات اخرى من النتروجين من الكلوتامين وفوسفات الكاربوباموبل والاسبارتيت .

٢ . عائلة الاسبارتيت :

تتخلق هذه العائلة من نقطة بداية واحدة هي الاوكزالواسيتيت Oxaloacetate والتي هي احدى المواد الوسط في دورة الاحماض ثلاثية الكربوكسيل وقد سبق ذكرها عدة مرات في الفصل الحالي .

بعد تأمين هذا المصدر الاسبارتيت كالاتي : —

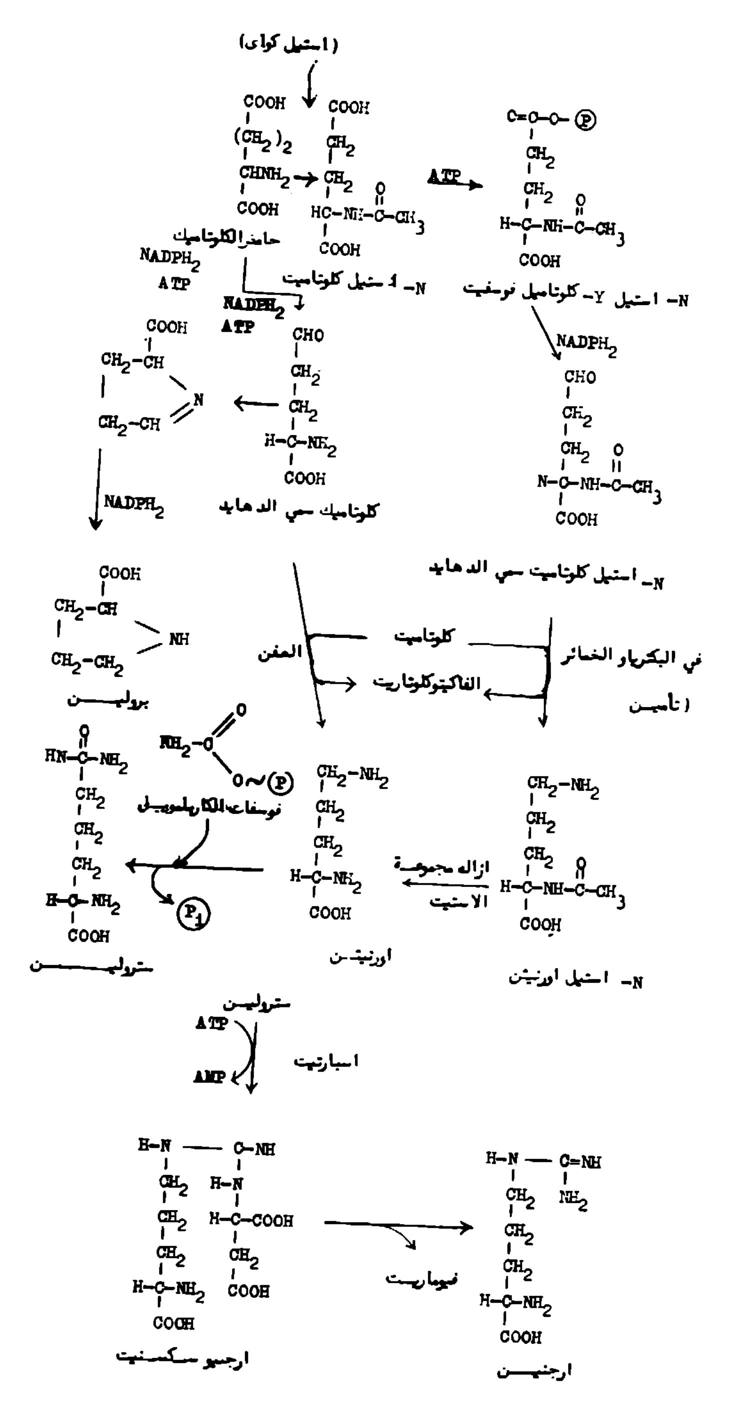
$$\begin{array}{c} COOH \\ | \\ CH_2 \\ | \\ C = O \\ | \\ COOH \end{array} + NH_3 + NADH_2 \longrightarrow \begin{array}{c} COOH \\ | \\ CH_2 \\ | \\ CHNH_2 \\ | \\ COOH \end{array} + NAD + H_2O$$

حامض اوكزالواستيت   حامض الاسبارتيك

وتعتبر الاسبارتيت المادة الاولية لتخليق الاحماض الامينية الميثايونين والثريونين كما في شكل (٤٠) ولتخليق الاسبارجين وتشترك في تخليق اللايسين والايسوليوسين . ان الخطوة البدائية هي فسفرة الاسبارتيت لتكوين فوسفات الاسبارتيك واختزال هذا الناتج الى اسبارتيك سمي الدهايد .

ان طريقة تخليق اللايسين من اسباراتيك سمي الدهايد المبينة في الشكل السابق لاتستخدم من قبل جميع الاحياء المجهرية . تستخدم الخمائر ومعظم انواع الفطريات وبعض الطحالب طريقا آخرا لتخليق كما هو موضح في الشكل (٤١) :

ان اللايسين لايعتبر في الاحياء التي تستخدم الطريق الثاني لتخليق اللايسين من عائلة الاسبارتيت . ان الحامض بايميليك ثنائي الامين المتكون عند تخليق اللايسين في بدائية النواة لايستعمل في بناء البروتين ولكن في بناء جدار الخلية اما حامض الدايبيكولينيك فهو يستخدم في تكوين السبورات في عائلة البكتريا الحقيقية .



شكل (٣٩) يوضح تخليق الاحماض الامينية في عائلة الكلوتاميت

$HOOC-CH_2-C(=O)-COOH$
حامضاوكز الواسـتيك

$HOOC-CH_2-CH(NH_2)-COOH$ $\xrightarrow[ATP]{+NH_3}$ $H_2N-C(=O)-CH_2-CH(NH_2)-COOH$
حامض السبارتيك — الاسبارجين

↓ ATP
↓ $NADPH_2$

$CH_2(OH)-CH_2-CH(NH_2)-COOH$ $\xleftarrow{NADPH_2}$ $OCH-CH_2-CH(NH_2)-COOH$ — $CH_3-C(=O)-COOH$
هوموسيرين — اسبارتيك سمى الدهايد — حامض البايروفيك

↓ ATP → ADP

CH_2O-Ⓟ, CH_2, $H-C-NH_2$, $COOH$
اوفوسفو هوموسيرين

CH_2-S-CH_2, CH_2 / $H-C-NH_2$, $H-C-NH_2$ / $COOH$
سيستا ثايونين

HOOC — N — COOH (حلقة)
حامض دايهيدرو دايكولنك

↓ $NADPH_2$

HOOC — N — COOH (حلقة)
حامض تيتراهيدرو دايكولنك

↓ H_2O

سيرين ↓

CH_3, $H-C-OH$, $H-C-NH_2$, $COOH$
الثريونين

CH_2SH, CH_2, $H-C-NH_2$, $COOH$
هومو ستسين

↓ Succinyl S-COA

$HOOC-C(=O)-(CH_2)_3-CH(NH_2)-COOH$
ثاني امين ـ سادس كيتوبايمليت

↓ $-NH_3$

↓ الفوميت الفعال

$HOOC-CH(NH_2)-(CH_2)_3-CH(NH_2)-COOH$
حامض البايمليك ثنائي الامين

CH_3, CH_2, $C=O$, $COOH$
حامض الفاكيتوبيوتيرك

CH_3, S, CH_2, CH_2, $H-C-NH_2$, $COOH$

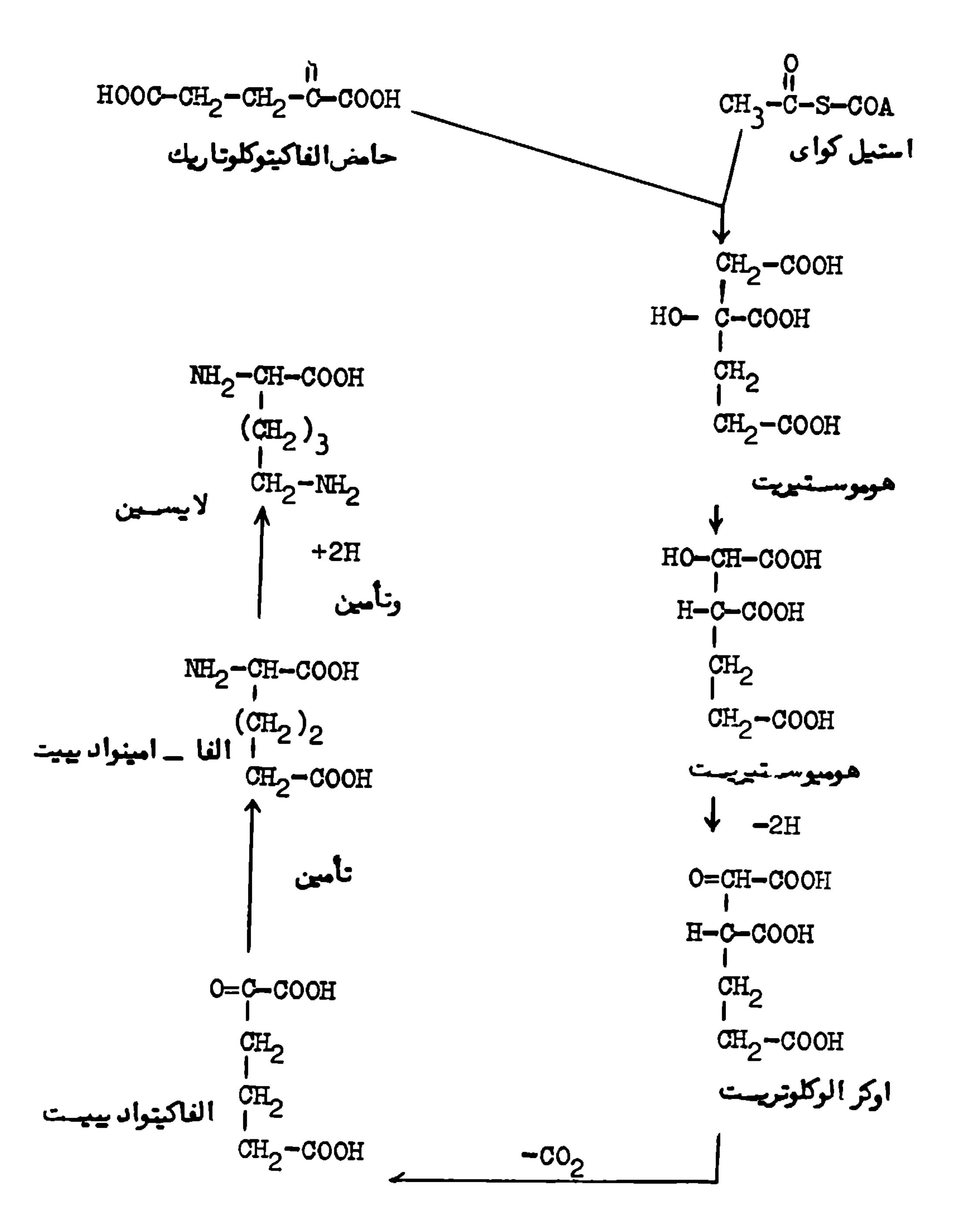
↓ CO_2

$NH_2-CH_2-(CH_2)_3-CH(NH_2)-COOH$

↓ ↓

$CH_3-CH_2-CH(CH_3)-CH(NH_2)-COOH$
ايسوليوسين — الميثايونين — اللايسين

(شكل ٤٠) تخليق الاحماض الامينية لعائلة الاسبارتيت



(شكل ٤١) يوضح تخليق اللايسين في معظم انواع الفطريات والخمائر وبعض الطحالب

٣ . العائلة الحلقية (الارومية) :

ان احدى المواد الاولية لتخليق هذه العائلة هي أرثروز رابع الفوسفات التي تم تخليقها خلال دورة كالفن والمادة الاخرى الفوسفواينول بايروفيت هي احدى المواد التي تعوض عن المواد الوسط في دورة الاحماض الثلاثية الكربوكسيل تشمل هذه العائلة الاحماض الامينية مثل الـ ـ تايروسين L-Tyrosine وال ـ فينيل الانين L-Phenylalanine وال ـ تربتوفان L-Tryptophan . يبدأ التخليق بتكثيف رباعي الكربون وثلاثي الكربون لتكوين مركب عضوي سباعي الكربون (3-Deoxy-D-Arabinoheptulosonic Acid 7-Phosphate) كما في الشكـــل (٤٢) . ان هذا المركب السباعي الكربون ياخذ شكلا حلقيا وهو حامض ٥ ـ ديهايدروكوينيك وهذه الحلقة هي حلقة الكربون في المركبات النهائية . اما الحلقة الاخرى الثـانويـة لحـامـض التـايروسين والفنيـل الانـين فتـأتي من فوسفواينول بايروفيت التي تضاف الى المادة الوسط (حامض شكيميك خامس الفوسفات) . ان حامض الكوزميك يعتبر مفترق طرق لكل من الاحماض الامينية الثلاث الثايروسين والفنيل الانين من جَهة والتريتوفان من جهة اخرى . فالحمضان الامينان الاولان يفترقان عند المادة الوسط حامض البرفنيك .

ان هذا الطرق لتكوين الاحماض الامينية الحلقية يتبع تكوين اليوبيكوينون الذي يستخدم في عمليات التخليق الضوئي وذلك عن طرق الكوزرميت ثم الباراهيدروكسي بنزويت

اما حامض التربتوفان فيتخلق من حامض الكوزميك لمفرق طرق من الفينيل الانين والتابروسين كما موضح في الشكل (٤٣) .

٤ ـ عائلة السيرين :

تشمل هذه العائلة الاحماض الامينية تربتوفان (جزء) ل ـ كلايسين L-Glycine ، ل ـ سستين L-Cysteine . ان المادة الاولية هي ثالث فوسفات الكليسرين والمادة التي تعتبر مفترق الطرق لكل من الحامضين الامينين ل ـ كلايسين ل ـ سستين هي الحامض الاميني ل ـ سيرين وهذا الحامض يدخل كجزء ثان عند تخليق الحامض تربتوفان من العائلة الحلقية كما في الشكل (٤٤) .

٥ ـ عائلة البايروفيت :

تشمل هذه العائلة الاحماض الامينية الثلاثة ال ـ فالين L-Valine ول ـ الانين L-Alanine ول ـ ليوسين L-Leucine . من المادة الاولية بايروفيت كما في شكل (٤٥) يخلق الالنين بواسطة نقل مجموعة اللاسين من اى حامض اميني الى حامض البايروفيك هناك بعض الاثبات باختلاف طريقة تخليق بعض الاحماض

$$\begin{array}{l} COOH \\ | \\ C-O-Ⓟ \\ \| \\ CH_2 \end{array} \qquad \begin{array}{l} CHO \\ | \\ H-C-OH \\ | \\ H\ C-OH \\ | \\ CH_2-O-Ⓟ \end{array}$$

فوسفوا ينول بايروفيت   ارثروز رابع الفوسفات

$$\downarrow$$

$$\begin{array}{l} COOH \\ | \\ C=O \\ | \\ CH_2 \\ | \\ HO-CH \\ | \\ H-COH \\ | \\ H-COH \\ | \\ CH_2-O-Ⓟ \end{array}$$

حامض ٣ ـ د يوكسيارابينو هيبتولوسونيك سابع الفوسفات

$$\downarrow -Pi$$

CH COOH
O OH
OH

حامض ـ ديهادروكوينيك

$$\downarrow -H_2O$$

COOH
O OH
OH

حامض ـ ديهايدروشيكيميك

$$\downarrow NADPH_2$$

شكل (٤٢) يوضح تخليق الاحماض الامينية في العائلة العطرية

COOH
ATP
OH OH OH
Ⓟ-O
حامض شيكميـــك
حامض - فوسفوشكيميك
فوسفواينول بايروفيت
CH_2
Ⓟ - O
O-C-COOH
حامض ٣ - اينول بايروفيل شكيميك خامس الفوسفات
-Pi
حامض الكوزميـــك
HOOC
CH_2-C-COOH
$-CO_2$
NAD
$-CO_2$
حامض فينيل بايروفيك
حامض برفينيـــك
باراهيدروكسيفنيل بايروفيت
تأمين
CH_2-CH-COOH
NH_2
أيل - حامض فنيل الانيـــن
ايل - تايروسين

تابع شكل (٤٢)

حامض كوزميك

خامس فوسفات رايبوسيك متعدد الفوسفات

$-Pi$

$-Pi$

انثرانليت

ان — O — فوسفورايبوسيل انثرانيليت

$-H_2O$

$-CO_2$

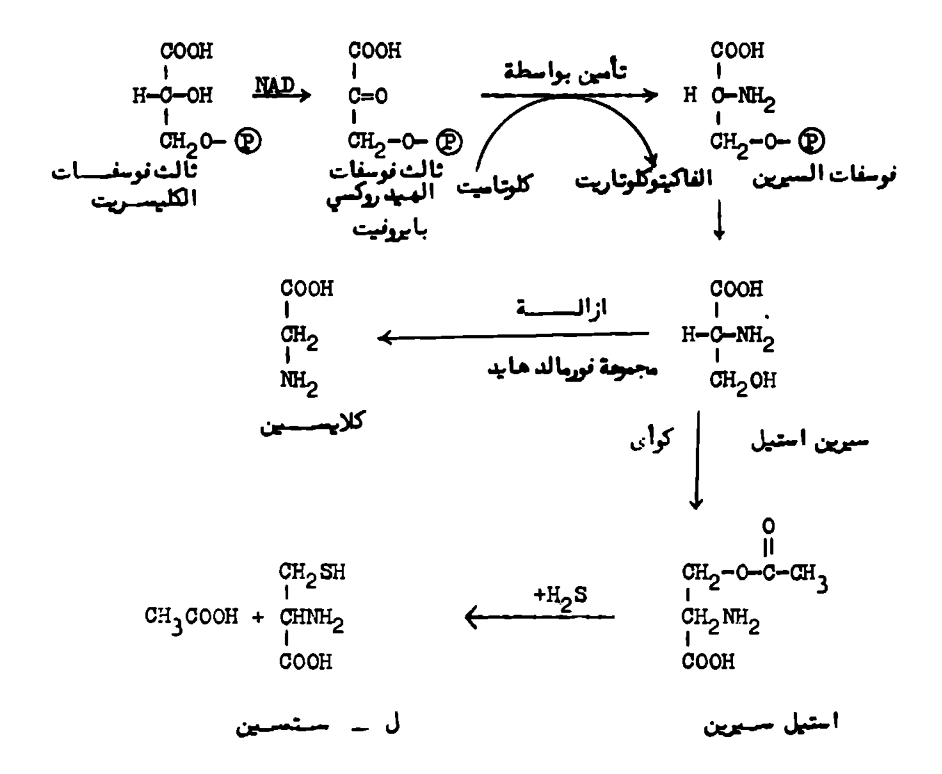
تربتوفان

Serine ثالث فوسفوكليسالدهايد

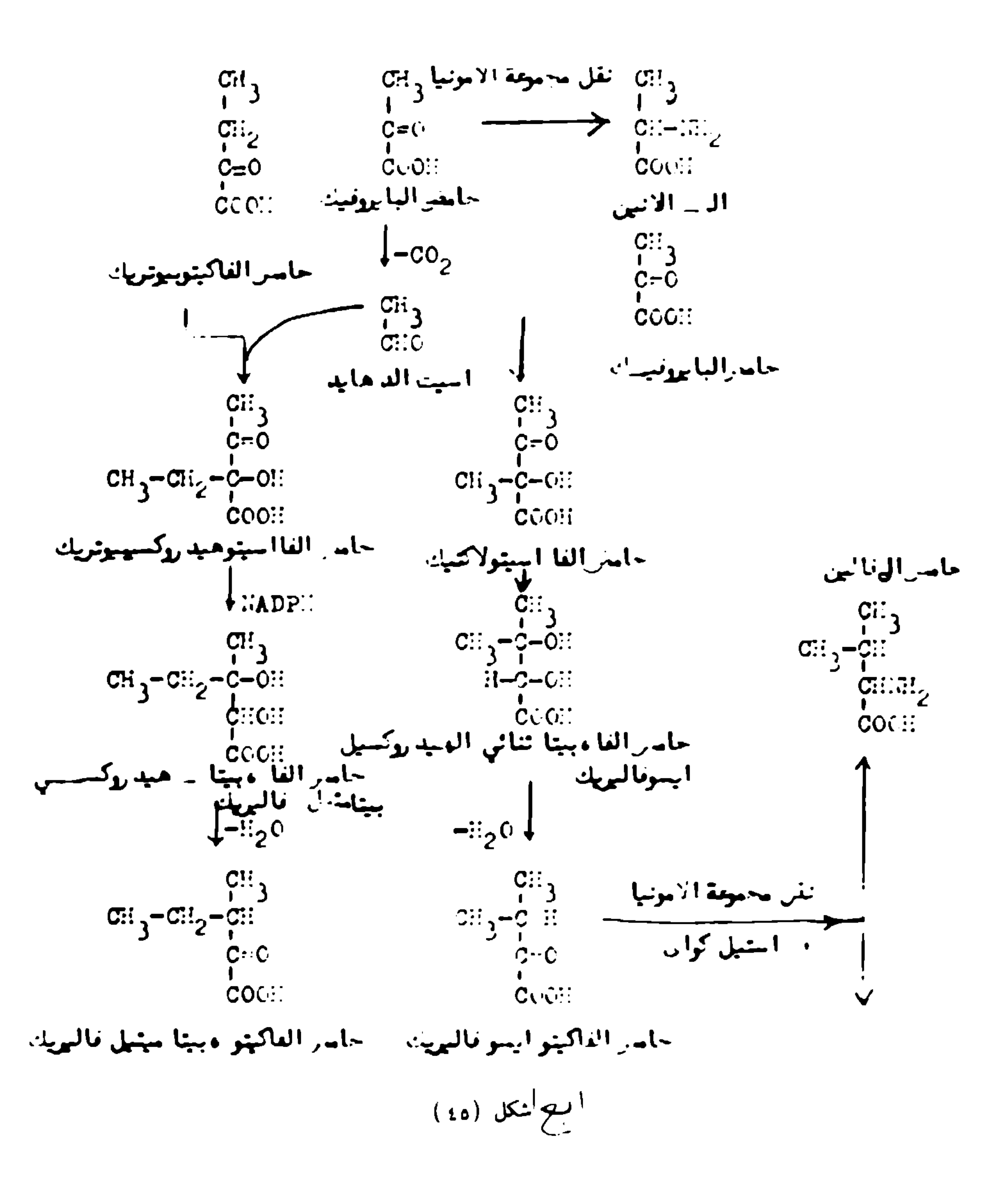
سيرين

اندول كليسرول ثالث الفوسفات

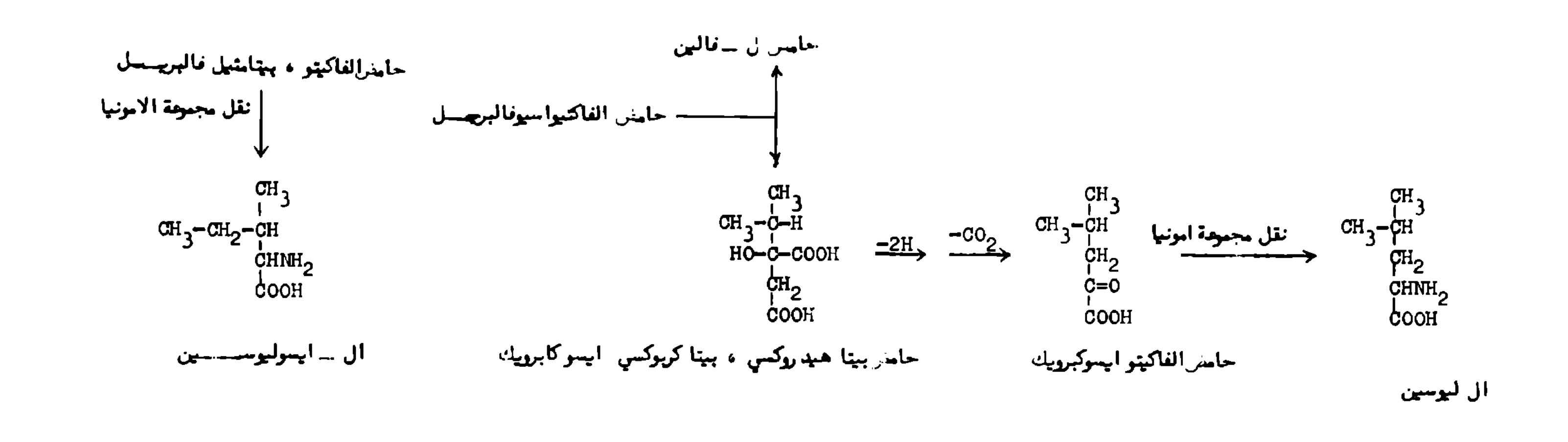
شكل (٤٣) يوضح تخليق حامض التربتوفان



شكل (٤٤) يوضح تخليق الاحماض الامينية في عائلة السيرين



تابع الشكل (٤٥)



شــكل (٤٥) يبين تخليق الاحماض الامينية في عائلة البايروفيت

الامينية في الاحياء المجهرية اللاهوائية ، فمثلا وجد في بكتريا ميثانوبكتريوم او مليانسكي **Methanobacterium omelianskii** عند نموها على وسط يحتوي على الكحول المثيلي وثاني اوكسيد الكربون كمصادر وحيدة للكربون فأنها تخلق الحامض الاميني ايسوليوسين من اضافة مجموعة الكربوكسيل الى الكحول . ان طرق تخليق الاحماض الامينية كانت لتخليق الشكل اليساري L-Form ولكن الشكل اليميني D-Amino Acids يوجد في الاحياء المجهرية كجزء على تراكيبها كما في جدار الخلية البكتيرية ويخلق هذا الشكل من الشكل اليساري بعملية ريسميسيشن Racemisation .

تخليق الحامض الاميني هستدين :

يخلق هذا الحامض بطريقة خاصة به وتتكون من جزيئة خامس فوسفات الرايبوسيل المتعدد الفوسفات PRPP التي سبق ذكرها عند تخلق الاحماض

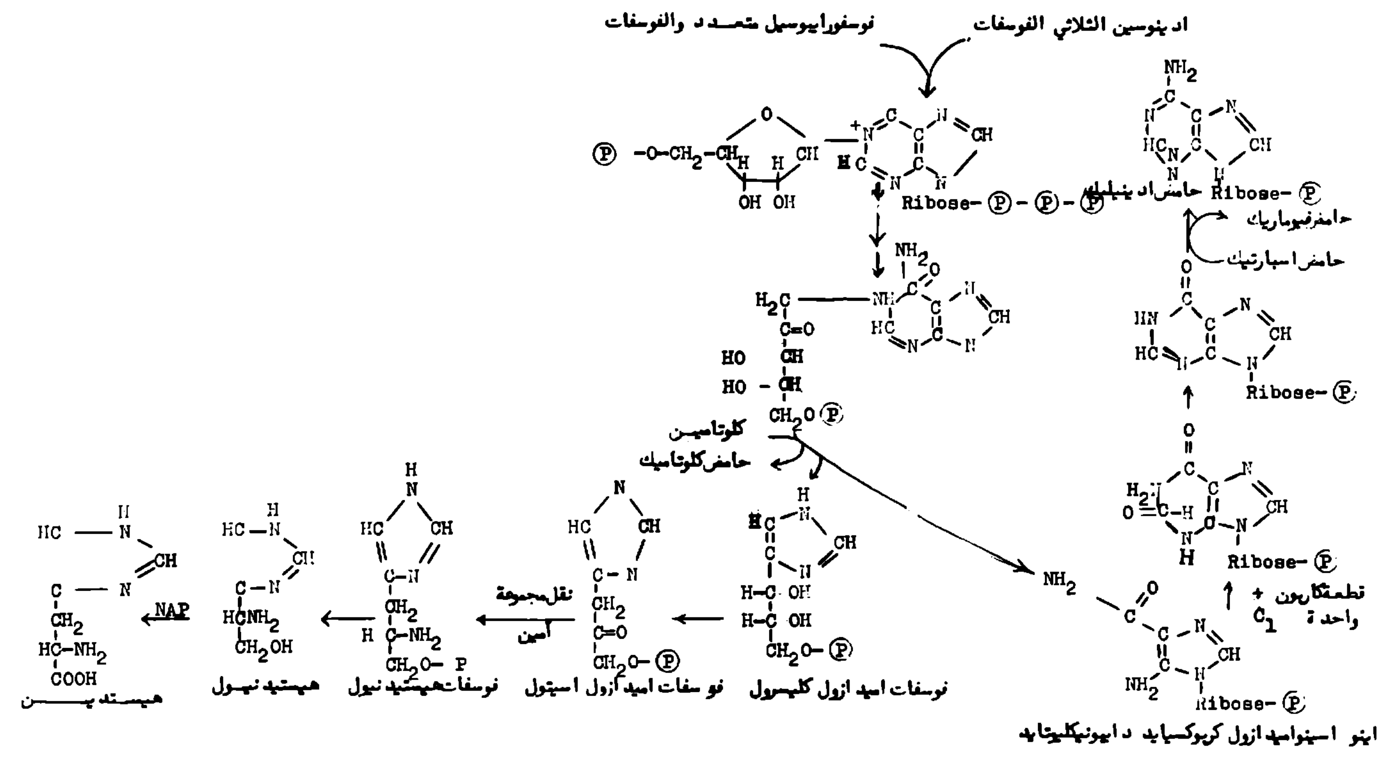
النووية ومن الادينوسين الثلاثي الفوسفات . يوجد بعض العلاقة في تخليق هذا الحامض وتخليق البيورين نيوكليوتايد حيث تحل جزيئة الادينوسين ثلاثي الفوسفات والبعض من الجزيئة يدخل في تركيب الحامض الاميني هيستيدين والبقية ترجع وتدخل في تخليق جزيئة البيورين كما في الشكل (٤٦)

عملية تخليق البروتين :

ان البروتين البسيط ينتج من تكثيف الاحماض الامينية مع بعضها البعض لتكوين سلسلة منها وهذا التكثيف يحصل بين مجموعة الامين لحامض اميني معين مع مجموعة الهيدروكسيل للحامض الاميني الآخر مما ينتج عن آصرة تدعى آصرة البيتايد Peptide Bnod كما يلي :

Peptide Bond كما يلي

$$H_2N-CH(R_1)-C(=O)-OH + H_2N-CH(R_2)-C(=O)-OH \xrightarrow{-H_2O} H_2N-CH(R_1)-C(=O)-NH-CH(R_2)-C(=O)-OH$$



شكل (٤٦) يبين تخليق الحامض الاميني الهستدين

ان R_1 و R_2 تمثلان مجموعة الكربون وهي تختلف من حامض اميني الى حامض اميني آخر . ان السلاسل القصيرة (من خمسين الى مئة او اقل) من الاحماض الامينية تدعى متعددة الببتايد والسلاسل الطويلة هي البروتين . يكون ترتيب الاحماض الامينية في هذه السلاسل متخصصا اي ان لكل نوع من انواع البروتين يكون له تسلسلا معينا للاحماض الامينية التي تكونه . ان هذا التخصص يكون حسب شفرة Code تقع على الحامض النووي DNA كما اسلفنا . ان ترجمة هذه الشفرة لتكوين البروتين تحدث بواسطة الحامض النووي الناقل tRNA ولقد اتضح ان لهذا الحامض القدرة على الارتباط بالاحماض الامينية بواسطة آصرة استر بين مجموعة الكربوكسيل (-COOH) للحامض الاميني ومجموعة الهيدروكسيل (-OH) على الكربون رقم ٣ للقاعدة ادينوسين الاخيرة من الحامض الناقل tRNA وبمساعدة انزيم معين يدعى امينواسيل ترانسفرار . ان اي سنثيتز (Amino-Acyl- tRNA. Synthetase)

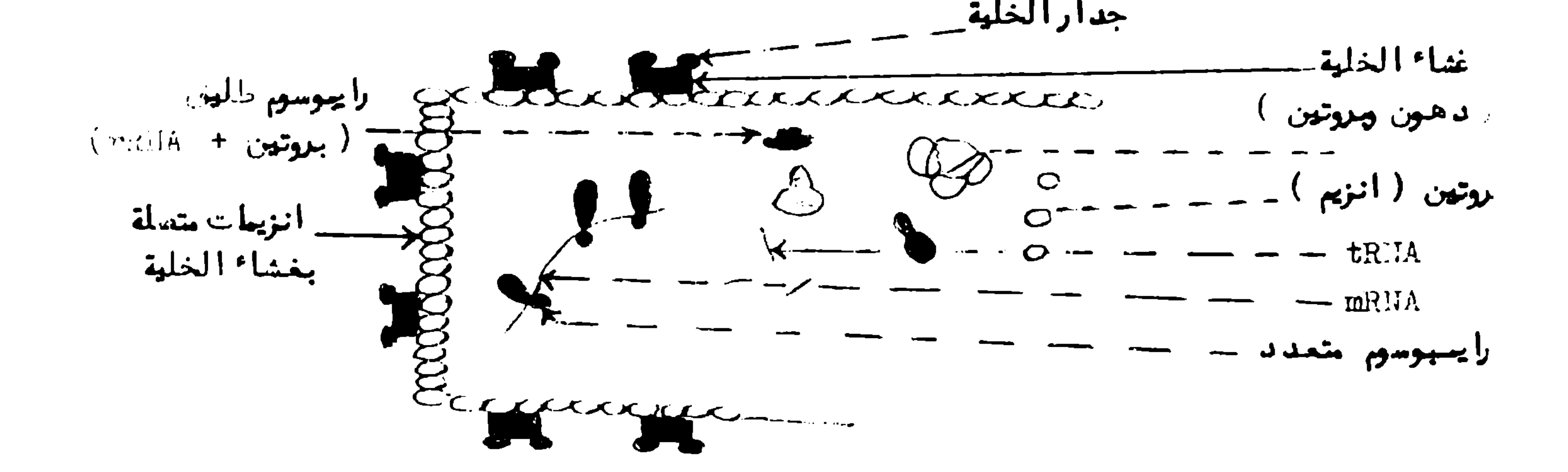
Amino Acid + ATP + Synthetase ———
Synthetase-(Amino-Acyl- AMP) + PPi

Synthetase- (Amino-Acyl-AMP) + tRNA ———
Amino-Acyl-tRNA + AMP + Synthetase

واتضح كذلك وجود tRNA متخصص لحمل حامض اميني واحد فقط .

ان الاحماض الامينية تتبلمر مع بعضها بعد اتصالها بالحامض النووي الناقل وفي منطقة البوليسومات Polysomes والتي تتألف من حوالي ٧٠ ــ ٨٠ قطعة من الرايبوسوم محمولة على جزيئة من mRNA كما في شكل (٤٧) وكل قطعة من الرايبوسوم تتألف من جزيئة من rRNA متحدة مع عدد من البروتينات المختلفة .

ان المركب الذي يتكون من mRNA والرايبوسومات المحمولة عليه بصورة مرتبة له القدرة على وصل او ربط جزيئات tRNA والحاملة للاحماض الامينية حيث اتضح وجود منطقة متخصصة على tRNA تدعى بضد الكودون ANTI CODON والتي بواسطتها يتصل هذا الحامض مع mRNA الذي يحمل الكودون CODON او الشفرة . يتألف الكودون من ثلاث قواعد نووية فقط ذات تسلسل معين وضدة يحمل القواعد الثلاث المكملة لها . فاذا ماوجدت القاعدة سايتون مثلا على الكودون توجد الكوانين على ضده . لقد وجد ان الرايبوسومات تترتب على mRNA وهو لايزال بصورة استنساخه من DNA .



شكل (٤٧) شكل تخطيطي لبكتريا اشريشيا كولاي موضحا الجزيئات الكبيرة فيها .

ان المعلومات الوراثية او الشفرة الوراثية التي وجد انها عامة للاحياء كافة كما موضح في الجدول (٣) .

القاعدة الاولى في الشفرة	U	C	A	G	القاعدة الثالثة في الشفرة
U	فنيل	سير	ثابرو	ستين	U
	فنيل	سير	ثابرو	ستين	C
	ليو	سير	اوكر	امبر	A
	ليو	سير	امبر	تربتو	G
G	ليو	برو	هس	ارجـ	U
	ليو	برو	هس	ارجـ	C
	ليو	برو	كوانو	ارجـ	A
	ليو	برو	كوانو	ارجـ	G
A	شبيه ليو	تريو	اسبر	سير	U
	شبيه ليو	تريو	اسبر	سير	C
	شبيه ليو	تريو	لايسن	ارجـ	A
	ميشا	تريو	لايسن	ارجـ	G
G	فالين	الا	اسبر	كلايسين	U
	فالين	الا	اسبر	كلايسين	C
	فالين	الا	كلوتا	كلايسين	A
	فالين	الا	كلوتا	كلايسين	G

القاعدة الثانية في الشفرة

جدول (٣) يوضح الشفرة الوراثية .

القواعد في جزيئة RNA هي ادنين (A) وكوانين (G) وسايتوسين (C) ويوراسيل (U) . ان الاحماض الامينية العشرون مكتوبة بصورة مختصرة . القاعدة الاولى في اي ورثية تقع في العمود الأول والقاعدة الثانية في الاعلى والقاعدة الثالثة في العمود الثالث كلمة امبر AMBER واوكر OCHRE وامبر UMBER فتعني وقوف تكوين السلسلة .

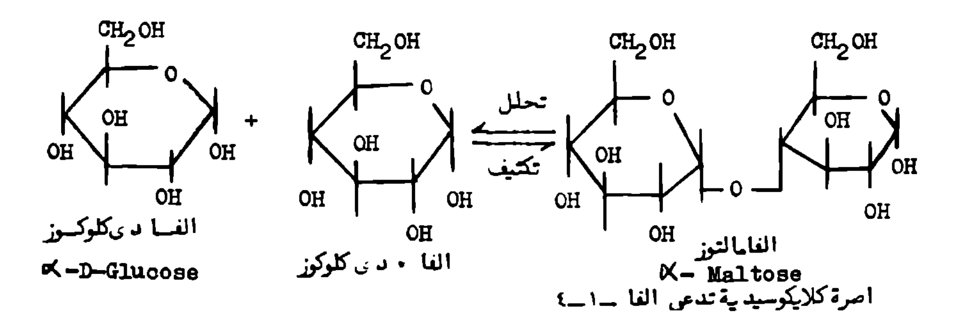
ان هذه الشفرة تحمل على mRNA وتترجم الى البروتين بواسطة الرايبوسومات و tRNA بطريقة مذهلة . فبعد ان يتصل mRNA مع الرايبوسوم يتصل tRNA والذي يحمل الحامض الاميني المتخصص به مع مركب mRNA والرايبوسوم وفي العادة يتصل اثنان من tRNA والمتخصصان لاثنين من الورتيات في وقت واحد وفي هذه الحالة بالطبع لايستدعي الا tRNA المتخصص بالورثية الواحدة عند استدعاء اثنين من tRNA تتكون آصرة الببتايد بينهما وبالنتيجة تتكون سلسلة الاحماض الامينية حسب الشفرة الموجودة على mRNA والتي في دورها قد استنسخت من DNA . وبعد هذه العملية يتحرك mRNA الى اليمين ورثيا واحدا ويتحرر tRNA للورثي الاول . يأتي بعد ذلك tRNA الذي يحمل الحامض الاميني الثالث ويتصل مع مركب mRNA والرايبوسوم وتعاد العملية بتكوين آصرة ببتايد أخرى وهكذا تستطيل سلسلة الاحماض الامينية . توجد في الشفرة الوراثية ثلاث ورثيات هي الامبر AMBER والاوكر OCHRE والامبر UMBER تحمل الامبر AMBER القواعد الثلاث يوراسيل ـ ادنين ـ كوانين والاوكر OCHRE تحمل يوراسيل ـ ادنين ـ ادنين . والامبر UMBER تحمل يوراسيل ـ كوانين ـ ادنين هذه الشفرات الثلاث تعني (ايقاف) اي ايقاف عملية بلمرة الاحماض الامينية في البروتين .

٣ ـ تخليق متعدد السكرايد

متعدد السكرايد Polysaccharide

ان خلايا الاحياء المجهرية تحتوي على انواع وكميات مختلفة من متعدد السكرايد حيث تشكل هذه الكميات نسبة مقدارها ٦٠٪ من الوزن الجاف للخلية . ويوجد متعدد السكرايد في تراكيب مختلفة من الخلية اهمها الجدار هذا وتفرز الى الخارج كميات من متعدد السكرايد تفوق ماهو موجود منها داخل الخلية .

يتألف متعدد السكرايد من وحدات مونوميرات Monomers متصلة مع بعضها بآصرة تدعى الكلايكوسيدك كالاتي :



اصرة كلايكوسيد ية تدعى الفا ـ ١ ـ ٤

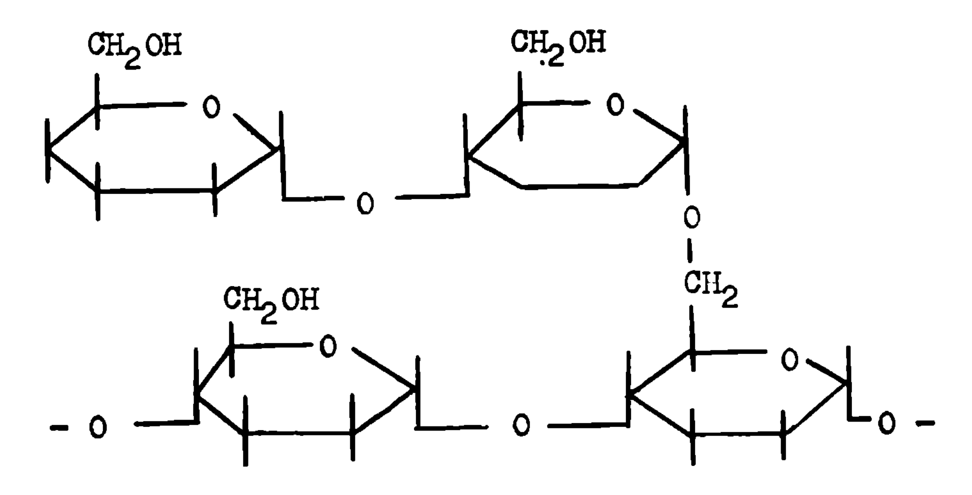
ان الاواصر الكلايكوسيدية هذه قابلة للتحلل المائي منتجة بعد التحلل الوحدات الاساسية بصورة حرة وان عملية البلمرة لاعادة تركيب متعدد السكرايد لاتعني فقط ازالة جزيئات الماء بل تشمل تفاعلات تحتاج الى كميات معينة من الطاقة لرفع مستوى الوحدات هذه من الطاقة الى مستوى معين تكون فيه قابلة للتفاعل وهذه العملية تدعى تنشيط Activation) وتحصل بعد فسفرة وحدة السكر وبواسطة احد انواع النيوكليوتايد متعدد الفوسفات مثل ATP او UTP او GTP او CTP وكالاتي :

Glucose −1− Phosphate ——— UDP − Glcose + PPi + UTP

UTP   Pyrophosphate (PPi) فوسفات لاعضوية

ان هذا التفاعل يحدث بمساعدة انزيم متخصص بالسكر وبالنيوكليوتايد يدعى انزيم بايروفوسفوريلز Pyrophosphorylase . ان وحدات متعدد السكرايد يمكن ان تكون متشابهة وعندئذ يدعى متعدد السكرايد المتشابه Homopolysaccharide مثل الكلايكوجين الذي يتألف من وحدات من سكر الكلوكوز ويمكن ان تكون هذه الوحدات متغايرة وعندئذ يدعى متعدد والسكرايد المتغاير Heteropolysaccharide مثل متعدد السكرايد الموجود في كبسولة بكتريا المكورات الثنائية الرئوية نيمونيا نوع **Diplococcus TypeIII (a)** **pneumoniae** وله وحدتان متغايرتان هما الكلوكوز وحامض الكلوكورونك ان ترتيب الوحدات المختلفة في متعدد السكرايد المتغاير يكون بشكل منتظم ومتكرر بهذا الترتيب فمثلا في هذه الكبسولة يكون النظام كلوكوز ـ حامض الكلوكورونك ـ كلكوز ـ حامض الكلوكورونك وهكذا . ان هذا النظام المتكرر لم نشاهده في الاحماض النووية والبروتينات اللذان يعتبران متعددي النظائر او الوحدات ايضا ففي الاحماض النووية يكون ترتيب القواعد بنظام غير متكرر وكذلك ترتيب الاحماض الامينية في البروتين .

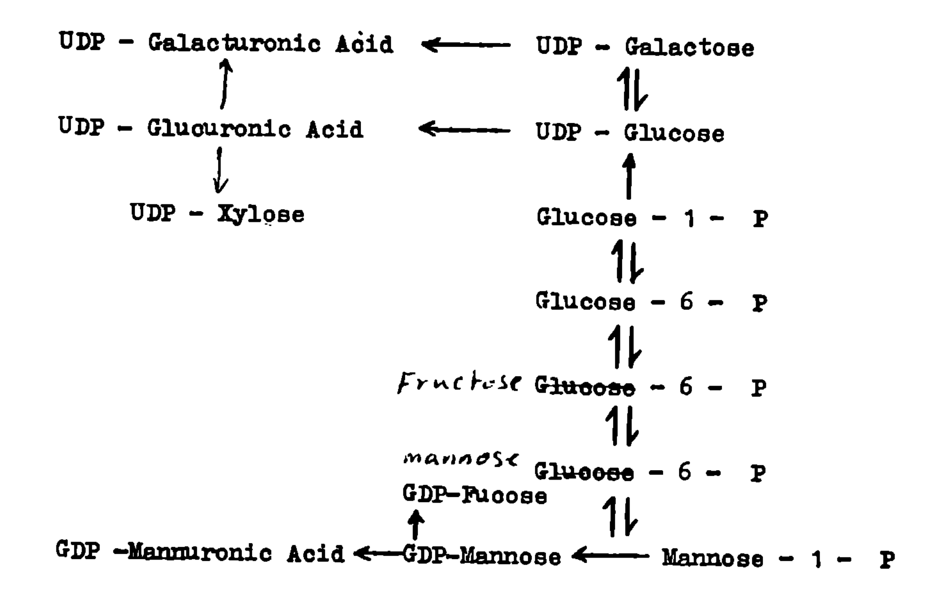
ان بعض انواع متعدد السكرايد يتألف من سلسلة واحدة رئيسية تتفرغ منها اذرع جانبية وكمثال على ذلك الكلايكوجين الموجود في البكتريا . تتكون الفروع بازالة جزء من السلسلة الرئيسة والتي تتصل الوحدات بآصرة كلايكوسيدية بين الكربون الاول والرابع لجزيئتي الكلوكوزكي تتحول الى آصرة بين الكربون الأول والسادس كما يلي :



ان معظم الاحياء المجهرية تحصل على العديد من وحدات متعدد السكرايد مثل الكلوكوز والفركتوز والمانوز من الاوساط الزرعية او من بيئتها لسهولة نفاذ هذه الوحدات داخل الخلية ولكن مَن النادر وجود هذه الوحدات بصورة طليقة داخل الخلية فهي توجد كاملاح فوسفاتية او في النيوكليوتايد . اما الوحدات الاخرى من السكريات فتحصل عليها من تحولات داخلية بين هذه السكريات من شكل الى آخر وهذه العملية هي الاخرى ايضا تحتاج الى عمليات تنشيط والتي تحصل بنفس الطريقة السابقة اي بعد تفاعل فوسفات السكر مع احد انواع النيوكليوتايد ثم تليها عملية التحويل كالاتي :

UDP -Glucose ⇌ UDP - Galactose

يحصل هذا التفاعل بمساعدة انزيم يدعى ابميريز Epimerase وهو متخصص ايضا لنوع السكر والنيوكليوتايد فمثلا في الحالة التي يتحول فيها الكلوكوز الى الكالكتوز بواسطة اليوردين ثنائي الفوسفات باليوردين ثنائي الفوسفات كالكتوزابميريز UDP- Galactose-4- Epimerase . توجد امثلة كثيرة ومتعددة لهذه التحولات كما في شكل (٤٨) .



شكل (٤٨) امثلة على تحولات السكريات .

ان تحول السكر المتعادل الى احماض سكرية يحدث ايضا بعد اكسدة السكر في النيوكليوتايد في الكربون السادس وكما يلي :

GDP - Mannose —(GDP-Mannose Hydrogenase; NAD^+ → $NADH + H^+$)→ GDP-Mannuronic Acid

جى دي بي مانوز ⟵ جى دي بي حامض المانيورونيك

اما السكر الخماسي الزايلوز (Xylose) فيتخلق من ازالة مجموعة الكربوكسيل من الحامض المتفاعل مع النيوكليوتايد (الكلوكورونك) كما في الشكل اعلاه . وهذا التفاعل كثير الحدوث في الخمائر . ان عملية الحصول على سكر منشط (مرتبط بالنيوكليوتايد) حصلت هنا دون فسفرة السكر وليس كما تم بحثه بالسابق . اما السكر فيوكوز Fucose وهو من السكريات التي ازيلت منها مجموعة الهيدروكسيل Deoxysugar فيتخلق من تحول في سكر المانوز في النيوكليوتايد من نوع الكوانودين ثنائية الفوسفات GDP-Mannose .

ان الاحياء المجهرية التي تتغذى على البروتين المهضوم او الشحميات او الاوساط غير الحاوية على السكريات فانها تخلق هذه الوحدات من تلك الاغذية بطرق متعددة ومعكوسة لعمليات تحلل تلك السكريات والتي سيأتي بحثها في الفصل القادم .

اما الاحياء المجهرية ذاتية التغذية فهي تخلق مركبات الكربون وبضمنها السكريات من ثاني اوكسيد الكربون بواسطة دورة كالفن كما سبق ذكره . ان تخليق متعدد السكرايد لايحتاج لوجود ختم Template التي كان وجودها ضروريا لتخليق الاحماض النووية وربما البروتين ايضا ولكن وجود الانزيمات المتخصصة لترتيب الوحدات في متعدد السكرايد ضروري لتنظيم ترتيب هذه الوحدات في اماكنها المتخصصة . ان العلاقة بين تركيب متعدد السكرايد وتنظيم الوحدات فيه تكون متخصصة بالكائن الحي المجهري ويمكن بواسطتها التميز بين انواع مجاميع تلك الاحياء كما هو الحال في البكتريا المسبحية حيث يعتمد تميز انواعها على تركيب متعدد السكرايد وكما هو في البكتريا المعوية حيث يساهم متعدد السكرايد بالخاصية المستضدية لجدار الخلية والذي يدعى المستضد الجسمي Somatic Antigen .

٤ ـ تخليق الشحوم

الشحوم او الشحميات Lipids

انها مركبات عضوية لاتذوب بالماء ولكنها تذوب بمذيبات شحمية مثل البنزين والكلوروفوم والايثر ، وجزيئاتها مختلفة في التركيب الكيمياوي والوظائف البايولوجية ووزنها الجزيئي نادرا مايزيد على الالف دالتون ، وتوجد انواع عديدة منها في الاحياء المجهرية . كما وتوجد الشحوم كاجزاء من مركبات أخرى اكثر تعقيدا هي البروتينات الشحمية Lipoproteins ومتعد السكرايد الشحمي Lipopolysaccharide في جدران خلايا الاحياء المجهرية او في الاغشية السايتوبلازمية كالشحوم الفوسفاتية Phospholipids . ان الشحميات الموجودة في البروتينات الشحمية ومتعدد السكرايد الشحمي في جدران الخلايا البكترية السالبة لصبغة كرام واحدة في النوع وتدعى الشحوم آ (Lipid A) والتي يبلغ مقدار الاحماض الشحمية طويلة السلسلة فيها ٥٠ ٪ وهي مسؤولة عن سمية البكتريا التي تحتويها . اما الشحوم الفوسفاتية الموجودة في الغشاء السايتوبلازمي فتتكون من شحميات الكليسرول المفسفرة Glycerophospholipid والتي تحتوي على الكليسرول واحماض شحمية تتصل بذرة الكربون الاولى والثانية للكليسرول وعلى مركبات آخرى تتصل بذرة الكربون الثالثة والتي تحتوي على جذر الفوسفات ايضاً . ان هذه المركبات مختلفة فقد تكون قواعد عضوية او احماض امينية او كحولات وكمثال على ذلك الفوسفاتيدل ايثانول امين Phosphatidylethanol Amine الذي يوجد في الغشاء السايتوبلازمي للبكتريا والذي يكون تركيبه كالاتي :

```
                                              O
                                              ‖
                                 CH2 - O - C - R1
                                  |           O
                                  |           ‖
                        O        CH - O - C - R2
+                       ‖         |
NH3 - CH2 - CH2 O - P - O - CH2
                        |
                        O-
```

R_1 تمثل الحامض الشحمي بالمتيك Palmitic Acid

R_2 تمثل الحامض الشحمي باسيليك Bacillic Acid

اما في الفطريات فان تركيب شحوم الكليسرول الفوسفاتية يختلف قليلا حيث تتصل ثلاث مجموعات من المثيل بذرة النتروجين في الامين وكذلك يختلف نوع الحامض الشحمي المرتبط بذرة الكربون للكليسرول ، ان هذا المركب في الفطريات يدعى بالفوسفاتيديل كولين Phosphatidyl-Choline والذي يكون تركيبه كالآتي :

$$
\begin{array}{l}
\qquad\qquad\qquad\qquad\qquad\qquad\qquad CH_2 - O - \overset{\overset{O}{\parallel}}{C} - R_1 \\
\qquad\qquad\qquad\qquad\qquad\qquad\qquad\; | \\
\qquad\qquad\qquad\qquad\qquad\qquad\qquad CH - O - \overset{\overset{O}{\parallel}}{C} - R_2 \\
\qquad\qquad\qquad\qquad\qquad\qquad\qquad\; | \\
CH_3 - \underset{\underset{CH_3}{|}}{\overset{\overset{CH_3}{|}}{N^+}} - CH_2 - CH_2 - O - \underset{\underset{O^-}{|}}{\overset{\overset{O}{\parallel}}{P}} - O - CH_2
\end{array}
$$

فوسفاتيد يل كوليــــــن

R_2 تمثل حامض الاوليك Oleic Acid

ان ابسط انواع الشحميات هي الاحماض الشحمية المشبعة وتركيبها العام هو $CH_3 - (CH_2)_n - COOH$ وتملك عددا زوجيا من ذرات الكربون وغير متفرعة في بعض الاحيان تكون هذه الاحماض غير مشبعة وتحتوي على آصرة ثنائية او اكثر $(- C = C -)$. تتخلق الاحماض الشحمية غير المتفرعة المشبعة والتي يكون فيها عدد ذرات الكربون زوجيا بسلسلة من التفاعلات خلال طريق مالونيل كواي Malonyl - COA - Pathway وهذا الطريق تسلكه جميع الاحياء المجهرية تبدأ هذه السلسلة من التفاعلات بتخليق مالونيل كواي من اضافة جزيئة ثاني اوكسيد الكربون الى استيل كواي (Acetyl - COA) ، يعتمد هذا التفاعل على انزيم يدعى استيل كواي كاربوكسيليز Acetyl - COA Carboxylase والذي يحتوي على البيوتين

$$
\underset{\text{استيل كواي}}{CH_3 - \overset{\overset{O}{\parallel}}{C} - S - COA} \xrightarrow[\text{ATP} \;\rightarrow\; \text{ADP+Pi}]{CO_2} \underset{\text{مالونيل كواي}}{HOOC - CH_2 - \overset{\overset{O}{\parallel}}{C} - S - COA}
$$

بعد تكوين مالونيل كواي تنقل مجموعتان من الاسيل (Acyl Group) واحدة من مالونيل كواي والاخرى من استيل كواي الى مجموعة ثايول (SH−) موجودة في بروتين يدعى حامل الاسيل (Acyl Carrier Protien) ويرمز له بـ (ACP) وهو مركب له وزن جزيئي يبلغ حوالي ١٠,٠٠٠ دالتون في البكتريا ، اما في الخمائر فهذا المركب مع الانزيمات المتخصصة للتفاعلات يشكلان مركبا معقدا يدعى مخلق الاحماض الشحمية Fatty Acid Synthetase ووزنه الجزيئي مع الانزيمات يبلغ ٢,٣ مليون دالتون . ان ACP له القدرة على ربط مجموعة الاسيل كاملاح كبريتيد Thioesters . يجرى هذان التفاعلان بواسطة انزيمين ناقلين Transferases الأول يتخصص بمجموعة الاستيل والثاني بمجموعة المالونيل . ومن هذين التفاعلين ينتج مالونيل كوأي ـ اس ـ اي س بي Malonyl COA - S - ACP واستيل كواي ـ اس ـ اي س بي Acetyl COA - S - ACP وكما يلي :

$$HOOC-CH_2-\overset{\overset{O}{\|}}{C}-S-COA + ACP \longrightarrow HOOC-CH_2-\overset{\|}{C}-S-ACP + COA\ SH$$

مالونيل كواي — مالونيل ـ ايه أي سي بي

$$CH_3-\overset{\overset{O}{\|}}{C}-S-COA + ACP \longrightarrow CH_3-\overset{\overset{O}{\|}}{C}-S-ACP + COA\ SH$$

استيل كواي — استيل ايه ـ اي سي بي

بعد ذلك تتخلق الاحماض الشحمية طويلة السلسلة بنقل وحدات ثنائية الكربون بواسطة المالونيل ـ اس ـ اي س بي الى الاستيل ـ اس ـ اي س بي اولا وبمساعدة انزيم يدعى بيتا ـ كيتواسيل ـ اي س بي سنثتيز P - Ketoacyl ACP Synthetase وكما يلي :

$$CH_3-\overset{\overset{O}{\|}}{C}-S-ACP + HOOC-CH_2-\overset{\overset{O}{\|}}{C}-S-ACP \longrightarrow CH_3-\overset{\overset{O}{\|}}{C}-CH_2-\overset{\overset{O}{\|}}{C}-S-ACP + 2CO_2 + 2ACP-SH$$

يتبع عملية التكثيف اعادة عملية اختزال بواسطة ($NADPH_2$) كمايلي :ـ

يتبع عملية التكثيف اعلاه عملية اختزال بواسطة ($NADPH_2$) كما يلي : ـ

$$CH_3-\overset{O}{\overset{||}{C}}-CH_2-\overset{O}{\overset{||}{C}}-S-ACP \xrightarrow[]{NADPH_2 \rightarrow NADP} CH_3-CHOH-CH_2-\overset{O}{\overset{||}{C}}-S-ACP$$

بيتاهيدروكسي بيوتريل ـ اى سي بي

اختزال ← $CH_3-CH = CH-\overset{O}{\overset{||}{C}}-S-ACP$ ← H_2O

بيتا الفا

NADPH + H^+ ← $NADPH_2$

كروتونيل ـ اى سي بي

$$CH_3-CH_2-CH_2-\overset{O}{\overset{||}{C}}-ACP$$

بيوتريل ـ اى سي بي

يتكثف بعدها المركب بيوتيريل ـ اي سي بي مع جزيئة اخرى من مالونيل ـ اي سي بي وبتكرار التفاعلات السابقة يتكون مركب سداسي الكربون الذي يتكثف من جزيئة ثالثة من مالونيل ـ اي سي بي ليعطى مركبا ثماني الكربون وهكذا تستطيل سلسلة الكربون .

ان تخليق الاحماض الشحمية التي تحتوي على عدد فردي من ذرات الكربون يحصل في البكتريا وليس في الخمائر وذلك لأن البكتريا لها القدرة على اضافة وحدة ثنائية الكربون (C_2 - Group) بتفاعل مالونيل ـ اي سي بي مع املاح عضوية اخرى غير الاستيل كواي (في اول تفاعل من التخليق) وهذه الوحدة الاولية هي فاليريل كواي Valeryl - COA . اما تخليق الاحماض الدهنية غير المشبعة وغير المتفرعة والتي تحتوي على آصرة واحدة غير مشبعة مثل حامض الاوليك (Oleic Acid) .

او تحتوي على اصرتين او $CH_3 - (CH_2)_7 - CH = CH - (CH_2)_7 - COOH$ ثلاث غير مشبعة فتخليقها يكون بطريقتين اولها تدعى الطريقة الهوائية Aerobic Pathway وتحتاج الى اوكسجين جزيئي و $NADPH_2$ ومشتق الاسيل اي للحامض الدهني المعين ، وتتخلق الاصرة غير المشبعة عادة بين ذرتي الكربون التاسعة والعاشرة مثل بالميتوليل كواي كما يلي :

$$CH_3-(CH_2)_{14}-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-S-COA \xrightarrow[NADPH_2 \rightarrow NADP]{\frac{1}{2}O_2 \rightarrow H_2O} CH_3-(CH_2)_5-CH=CH-(CH_2)_7-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-S-COA$$

بالميتويل كواي

بالميتوليل كواي

Palmitoleyl COA

والطريقة الثانية لاتحتاج الى اوكسجين وتدعى اللاهوائية Anaerobic Pathway وتحدث في البكتريا اللاهوائية وبعض البكتريا الهوائية مثل الزوائف Pseudomonas والعصيات اللبنية Lactobacillus وكذلك في الطحالب الزرقاء الخضرة . ان الطريقة اللاهوائية تحدث كتفرع للطريق الذي سبق ذكره في تخليق الاحماض الشحمية المشبعة وتحدث عندما تكون سلسلة الكربون في الحامض الشحمي قصيرة فيها ٨ ــ١٢ ذرة كربون . فبدلا من حصول ازالة للماء بين ذرتي الكربون الفاوبيتا عند تخليق كروتونيل كواى تزال جزيئة الماء بين ذرة الكربون بيتا وكاما كالآتي :

$$CH_3-(CH_2)_5-CH_2-\overset{OH}{\overset{|}{C}H}-CH_2-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-S-ACP \xrightarrow{H_2O} CH_3-(CH_2)_5-CH=CH-CH_2-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-S-ACP$$

بيتا كاما

وتضاف الى المركب الاخير وحدات ثنائية الكربون بواسطة مالونيل كواي . ان هذه العملية تعني ان الاحماض الشحمية غير المشبعة والتي تتخلق عن طريق لاهوائي تكون الآصرة غير المشبعة فيها بموقع يختلف عن موقعها في الاحماض الدهنية التي تتخلق بالطريقة الهوائية ان بعض انواع الاحياء المجهرية لها القدرة على تخليق احماض شحمية فيها اربعة او خمسة او ستة اواصر مشبعة كما في اليوغلينا . ان تخليق هذه الاواصر غير المشبعة ربما يكون عن طريق مشابه لنفس النظام الذي سبق ذكره .

يحدث تخليق الاحماض الشحمية المتفرعة في العديد من الاحياء المجهرية وذلك بتفاعل احماض امينية مع استيل كواي لتكوين مركب للحامض الاميني مع استيل كواي يتبعها سلسلة من التفاعلات لتخليق الحامض الشحمي المتفرع وكما يلي :

CH_3-CH_2 COO^-

CHCH

CH_3 NH_3^+

TRANSAMINASE

CH_3-CH_2 COO

CHC=O

CH_3

COASH

CH_3-CH_2 S-COA

CHC=O

CH_3

CH_3-CH_2

$CH-CH_2-(CH_2)_9-COO^-$

CH_3

D^+-12-Methyl Tetradecanoate

ان تخليق الشحوم الاكثر تعقيدا من الاحماض الشحمية لم يدرس بصورة كاملة في الاحياء المجهرية ولكن تمت دراسة البعض منها مثل الكليسرايد الثلاثي والفوسفاتيديل ايثانول امين لذلك سنقتصر في البحث على تخليق هذين المركبين فقط .

يتخلق الكيسرايد الثلاثي من فوسفات الكليسرول والاستيل كواي للحامض الشحمي المعين وكما يلي :

ال ــ كليسرول ثالث الفوسفات

L-Glycerol-3P

لايبوفوسفاتيد يت

Lysophosphatidate

ترمز لانواع من الاحماض الشحمية

ل ــ ثالث ــ فوسفاتيد يت

L-2 L-3-Phosphatidate

واحد ، اثنان ثنائي الكليسرايد

1,2 Diglyceride

شكل (٤٩) يوضح تخليق الكليسرايد الثلاثي Triglyceride

اما تخليق الفوسفاتيديل ايثانول امين والذي تمت دراسته في البكتريا فيكون عن طريق الفوسفاتيديت التي تمت تخليقها من خلال عملية تخليق الكليسرايد الثلاثي شكل (٥٠) . يتفاعل هذا الملح مع الساتيدين ثلاثي الفوسفات CTP وكما يلي :

CTP → $HP_2O_7^{\equiv}$

Citidine

Serine → CMP

Phosphatidyl Serine

CO_2

Phosphatidyl Ethenol Amine

شكل (٥٠) تخليق الفوسفاتيديلي ايثانول امين

الفصل السادس

تحرر الطاقة

من الحقائق الثابتة ان التفاعلات التي تحتاج الى زيادة في الطاقة الحرة قد تستمر عندما يرافقها مصدر للطاقة الحرة . ومن المعروف ان التفاعل الكيمياوي كثيرا مايكون مولدا للحرارة ، لكن الحرارة التي تتكون خلال التفاعل المولد للحرارة Exothermic لاتكافيء او تساوي التغير في الطاقة الحرة . ان التفاعلات الكيمياوية العادية من السهولة ان يقاس التغير في الحرارة فيها (دلتا ح ΔH) فقط ومباشرة ، اي لايمكن قياس التغير في الطاقة الحرة (دلتا ف ΔF) بصورة مباشرة ولكن نحتاج لقياس الطاقة الحرة على ان نقيس القوى الحركية الكهربائية Electromotive Forces او (EMF) او ثابت التوازن Equilibrium Constant او (K) (ك) لتفاعل عكسي .

ان ثابت التوازن K للتفاعلات العكسية هو حاصل الضرب للكتل الفعالة لنواتج التفاعلات على حاصل الضرب للكتل الفعالة للمواد المتفاعلة في حالة التوازن . فعلي سبيل المثال لو اخذنا الكتل الفعالة لنواتج التفاعل ب + أ ، د + جـ المواد المتفاعله . فيكون ثابت التوازن (ك) كما يلي :

$$\text{ك} = \frac{[\text{جـ}] \times [\text{د}]}{[\text{أ}] \times [\text{ب}]}$$

ان النسبة لنواتج الخليط المتعادل تكون اكبر عندما يكون التفاعل بين أ ، ب ، اشد ويكون ثابت التوازن اكبر . ان تفاعلا كهذا يعرف بأنه يملك طاقة كامنة عالية High Potential Energy ، وعند استمرار التفاعل تقل هذه الطاقة لأن هذا التغير في الطاقة يعتمد بكميته على ثابت التوازن ك . ان ثابت التوازن يكون الدالة الحسابية للطاقة الحرة المتغيرة للمواد التي يتكون التفاعل منها Components of the Reaction وهذه الدالة يمكن التعبير عنها كالآتي :

دلتا فْ = -ر د لوغط ك

ر = تساوي ثابت الغاز (١,٩٨٧/ سعرة/ مول درجة)

د = درجة الحرارة المطلقة

لوغط ك = اللوغاريتم الطبيعي لثابت التوازن

دلتا فْ = التغير في الطاقة الحرة تحت ظروف قياسية

ان الاخذ والعطاء او الربح والخسارة في الطاقة الحرة مقاسة بالسعرات عندما يتحول 1 مول للمواد المتفاعلة الى 1 مول من المواد الناتجة وعليه يجب ان تكون المواد المتفاعلة بتراكيز 1 مولار. ان الحالة المذكورة آنفا هي الحالة القياسية وهي ظروف ملائمة يرجع اليها Reference Conditions وفيها تعرف الفعاليات للمواد السائلة اوالصلبة النقية والغازات في ضغط جو واحد مقداره (1ATMO.) والمركبات في المحاليل ذات تراكيز مقدارها ١ مول (1M) بدرجة حرارة معينة ٢٥ْ م على انها وحدات. ولذلك فأن دلتا فْ هي ثابت التفاعل دائما ومن الممكن اضافة كمياتها مع بعضها البعض. ان الطاقة القياسية الحرة دلتا فْ يجب ان لايخلط بينها وبين الطاقة الحرة Δ.ف وعلاقة هاتين الطاقتين مع بعضهما كالاتي :

$$\therefore \Delta ف = \Delta ف^{\circ} + ر د لوغط ك$$

ان الطاقة الحرة دلتا ف هي التي تحدد دائما (وليس الطاقة الحرة القياسية Δ.فْ) فيما اذا كان التفاعل تلقائيا ام لا ، حيث ان Δ فْ هي القيمة التي تدون في الجداول لأي تفاعل وذلك لانها كمية محددة في الوقت الذي تكون فيه دلتا ف ذات قيم مختلفة اعتمادا على الظروف الضمنية .

ونظرا لأن اغلب التفاعلات الحياتية تحصل في او حوالي (pH ٧,٠) لذلك يستعمل الرمز Δ فَ ليدل على التغير في الطاقة القياسية الحرة وفي pH ٧,٠ ان هذه تكون ذات اهمية فقط عند وجود (H^+) في التفاعل ، وعلى هذا الاساس فأن التفاعل الكيمياوي يصبح ممكنا اذا كان من النوع المعطي للحرارة Exothermic او بكلام آخر يحصل فيه نقص في الطاقة الحرة . ان هذا التفاعل ان حصل او لم يحصل فأن ذلك يتعلق بمؤثرات اخرى فعند حدوث تفاعل كيماوي يشترط ان تكون جزيئاته في وضع يساعدها على الاشتراك في التفاعل Reactive State . ان الجزيئات التي تملك طاقة كبيرة هي وحدها فقط التي تتفاعل لتعطي النواتج وحتى يسير التفاعل بصورة مستمرة يجب ان يرفع ماتملكه الجزئيات من طاقة الى الحد الذي تتعدى فيه حاجز الطاقة التي تلزمها للاشتراك في التفاعل وبذلك يستمر التفاعل للوصول الى حالة التعادل . وواحدة من الطرق المتبعة في مثل هذه الحالة هي ان ترفع درجات الحرارة الخليط او احمائه . ان الانزيمات كعوامل مساعدة تكون هي المسؤولة عن هذه الحاجات في الترتيبات البيولوجية . ومن خصائص

الانزيمات انها تخفض مستوى الطاقة التي تحتاجها الجزيئات لتشترك في التفاعل وهكذا تجعل اغلب الجزيئات في المادة تشترك في التفاعل في زمن محدد . ان الانزيمات تستطيع القيام بذلك لان لها القدرة على تكوين مركب وسط غير ثابت مع المادة المتفاعلة Substrate والتي يحصل فيها التحلل بصورة سريعة الى النواتج وهكذا يعتبر الانزيم كممر تعبر بواسطته الجزيئات خلال حاجز الطاقة للتفاعل Activation Energy عند وجود هذا الممر الواطى من الطاقة يواصل التفاعل مساره بصورة سريعة . ان الانزيمات تسرع الوصول الى حالة التعادل ولكنها تكون غير مؤثرة على نقطة التعادل التي قد يصل اليها التفاعل .

فالتغير في الطاقة الحرة يبقى ثابتا لاي تفاعل اذا اشترك الانزيم في ذلك التفاعل او لم يشترك . ان الزمن والسرعة لاتحتسب عند التفاعل بل الحالة النهائية للتفاعل ، وترتب على ذلك ان الانزيم يستطيع ان يباشر او يعجل تفاعل من الممكن حصوله . ان المثال التالي تفاعل اعتبر لحساب عملية لثابت التفاعل والتغير في الطاقة الحرة لتفاعل معين .

Glucose 1- Phosphate $\rightleftharpoons$ Glucose -6- Phosphate

هذا التفاعل يساعد بواسطة الانزيم Phosphoglucomutase عندما يبدأ هذا التفاعل باضافة الانزيم الى ٠,٠٢ مول من محلول مادة الكلوكوز الاحادي الفوسفات في درجة حرارة ٢٥° م وفي رقم هيدروجيني ٧,٠ pH وجد بالتحليل الكيمياوي ان هذا التفاعل يستمر الى حالة التوازن والتي يرتفع فيها التركيز النهائي لمادة الكلوكوز السادس الفوسفات من الصفر الى ٠,٠١٩ مول على فرض ان هذه التركيزات المقاسة تساوي الكميات الفعالة ثرمود ايناميكيا فأن :

$$\text{ك} = \frac{[\text{كلوكوز — ٦ — فوسفات}]}{[\text{كلوكوز — ١ — فوسفات}]} = \frac{\text{٠,٠١٩}}{\text{٠,٠٠١}} = \text{١٩}$$

وبعد معرفة قيمة ك فأنه بالامكان حساب التغير في الطاقة القياسية الحرة Standard Free Energy Change للتفاعل كالاتي : ـ

دلتا فَ = -رد لوغط ك

= -١,٩٨٧ × ٢٩٨ × لوغط ١٩

= -١,٩٨٧ × ٢٩٨ × ٢,٣٠٣ لو ١٩

= -١٧٤٥ سعرة/ مول

او بكلام آخر فأنه يوجد انخفاض في الطاقة الحرة مقداره ١٧٤٥ سعرة عند تحول مول واحد من الكلوكوز الاحادي الفوسفات الى مول واحد من الكلوكوز السداسي الفوسفات في درجة حرارة ٢٥ْ م . ان التفاعلات الكيمياوية في الاحياء تحدث في ترتيب او تعاقب منتظم يسمي الممر الايضي Metabolic Pathway ان هذا الترتيب او التعاقب يجب ان يعامل ككل اي جمع الطاقات الحرة المنفردة لكل خطوة : ـ

أ + ب ⇌ جـ + و

هـ + و ⇌ ز + حـ

ط + ي ⇌ ك + ل

ان الاحتمال النظري للتفاعل ككل من أ + ب الى ك + ل يمكن حسابه الجبوي للتغير في الطاقة الحرة للخطوات المفردة .

- ٦٠٠٠ - ٤٠٠٠ + ٣٠٠٠ = - ٧٠٠٠ سعرة/ مول من أ

وبناء عليه فأن التعاقب لهذه التفاعلات ككل يجري تلقائيا من اليمين الى اليسار ان هذا المثال يبين بوضوح السبب الذي يحتم على الكيمياوي في الاحياء المجهرية ان يتعلم التغيرات في الطاقة الحرة للتفاعلات فبواسطتها تتهيأ له الفرصة بفحص صحة معلوماته عن الممرات الايضية .

لايوجد نظام لتفاعلات تجري في وقت واحد (المقترنة) تبدأ تلقائيا الا اذا كانت Δ فَ سالبة (للنظام ككل) . اما الطاقة الحرة المتبقية (٧٠٠٠ سعرة/ مول من أ) فأنها تشع على شكل حرارة وتفقد من النظام في المحيط في تفاعل كيميائي طبيعي .

اما في التفاعلات الحياتية فلا يشترط حدوث ذلك ويمكن لتفاعل يولد طاقة ان يقترن مع تفاعل يحتاج الى طاقة كي يولد التفاعل الأول طاقة للتفاعل الثاني . ان في مثل هذه الانظمة المقترنة تجعل العملية التي تحتاج للطاقة فقط عندما يكون الانحدار في الطاقة الحرة في التفاعل المولد للطاقة المقترن معه اكبر من الكسب في الطاقة الحرة للتفاعل المكتسب للطاقة . ويتحتم ان يكون المجموع الجبري لهذه العمليات سالباً كي يتم ويستمر التعاقب فيها .

ان تعاقب الخطوات لاكسدة مادة عضوية موجه لتحرير طاقة بصورة تدريجية ، وهذه الطاقة تستعمل اما مباشرة لتفاعل يحتاج لطاقة او تخزن كي تتحرر في وقت متأخر وفي مرحلة أخرى من مراحل الممر الايضي .

ومن اهم طرق خزن الطاقة هي طريقة تكوين وسيط غني بالطاقة . ان مثل هذا الوسيط يكون له دورا في حفظ الطاقة الحرة على شكل طاقة كيمياوية وليست حرارية وهناك انواع كثيرة من هذه المركبات في الاحياء المجهرية مثل (أ) مشتقات لحامض الفوسفوريك ، الادينوسين الثلاثي الفوسفات (ATP) و (ب) مشتقات حامض كاربوكسيليك Carboxylic مثل استيل كواي . ان اشهر هذه المشتقات هو الادينوسين الثلاثي الفوسفات وهوالحامل للطاقة الكيمياوية من التفاعلات المؤكسدة والتي تحرر طاقة للتفاعلات في الخلية التي لايمكن ان تبدأ تلقائيا بل تبدأ عندما تتوفر لها طاقة كيمياوية فقط . يتكون الادينوسين الثلاثي الفوسفات من الادينوسين الثنائي الفوسفات في تفاعلات مقترنة . ان خطوات كيمياوية متعددة في الخلية والتي تولد الادينوسين الثلاثي الفوسفات تتم بمساعدة انزيمات او انظمة من انزيمات ومن كل ماتقدم يتضح بأن للطاقة الحرة ادوارا مهمة في الانظمة البيولوجية .

التفاعلات المؤكسدة المختزلة

ان هذه التفاعلات تدعي تفاعلات الاكسدة والاختزال وتعرف عملية الاكسدة عادة بأنها عملية فقدان للالكترونات والاختزال بعملية اكتساب الكترونات . ويرى هذا واضحا في اكسدة الهيدروجين الجزيئي وكما يلي :

$$H_2 - 2e^- \rightleftharpoons 2H^+$$

ان هذه الالكترونات التي تتحرر في التفاعل اعلاه يجب ان يتم استلامها من قبل مادة مؤكسدة فاذا مااستعملت مادة اوكسيد الحديدوز تحصل المعادلتين التالية :

$$H_2 - 2e^- \rightleftharpoons 2H^+$$
$$2\ Fe^{3+} + 2e^- \rightleftharpoons 2Fe^{2+}$$
$$H_2 + 2Fe^{3+} \rightleftharpoons 2H^+ + 2Fe^{2+}$$

وقد يقوم الاوكسجين الجزيئي بدور عامل مؤكسد بعملية مشابهة وفيها يستلم الكترونين او اربعة : ـ

$$O_2 + 2e^- \rightleftharpoons O_2^{2-} \rightleftharpoons H_2O_2$$
$$O_2 + 4e^- \rightleftharpoons 2O^{2-} \rightleftharpoons 2H_2O$$

دلتا ف = - ٥٧ كيلو سعرة / مول ماء

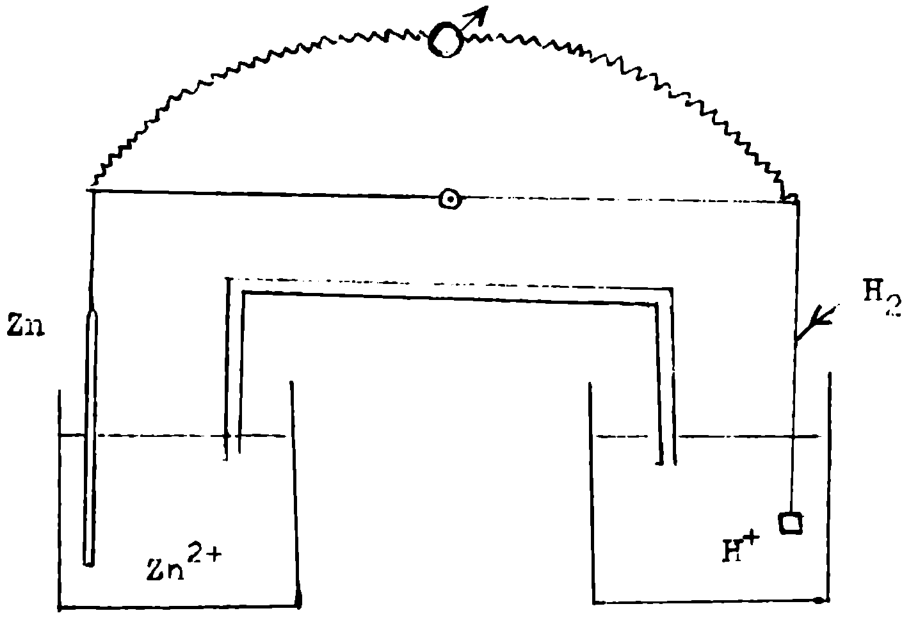
وتبعا للنظرية الحديثة فالتيار الكهربائي هو بالضرورة نقل للالكترونات . وهكذا فان معطي الالكترونات له قوة دافعة او جهد الكتروني خاص والمستلم لها يملك ألفه او انجذاب لتلك الالكترونات وعليه بالامكان ان يثبت بصورة مباشرة انتقال الكهربائية في تفاعلات الاكسدة والاختزال في ظروف تجريبية ملائمة . ان هذا الانتقال الكهربائي قد يكون قياسا كميا لقابلية المواد على اعطاء او استلام الالكترونات وبالنهاية يعتبر وسيلة لحساب التغير في الطاقة الحرة في تفاعلات الاكسدة والاختزال ان هذا القياس الكمي يدعي الجهد أو الطاقة الكامنة في الاكسدة والاختزال Oxidation Reduction Potential ففي حالة وضع قضيب من الخارصين في ماء مقطر يتأين بعض الخارصين

$$Zn \rightleftharpoons Zn^{2+} + 2e^-$$

حيث يمر ايون Zn^{2+} في المحلول اما الالكترونات التي تحرر فانها تتجمع على المعدن . ان القوى الكهربائية المستقرة Electrostatic تكون هي المسؤولة عن جذب ايونات الخارصين Zn^{2+} الى الالكترونات ذات الشحنة السالبة وهذا الجذب يقوم بترتيب الايونات حول القطب الكهربائي بشكل طبقة مغلقة وعليه فأنه يوجد فرق الجهد الكهربائي بين القطب وهذه الطبقة من الايونات .

اما اذا ابدل الماء المقطر بمحلول قياسي Normal لاي ملح مذاب للخارصين مثل كبريتات الخارصين فان التفاعل يسير الى اليسار ويتولد تعادل آخر بين القطب الكهربائي وبين المحلول . ان الفرق في الجهد الكهربائي الذي يتولد الان بين قطب الخارصين والمحلول القياسي لايونات الخارصين يدعى جهد القطب القياسي للخارصين . (Standard electrode potential) .

وبطريقة اخرى مماثلة اذا امتص غاز الهيدروجين تحت ضغط جوي طبيعي على سطح قضيب بلاتيني مغمور في محلول قياسي لحامض الهيدروكلوريك عندئذ يتولد قطب هيدروجيني قياسي Standard Hydrogen Electrode ان من الصعوبة ان يحدد فرق الجهد الصرف لأي قطب من هذه الاقطاب لأنها تمثل تفاعلات لنصف خلية ، اما اذا تم اقتران نصفا الخلية عندها تتكون القوة الكهربائية الدافعة للخلية Electromotive Force (EMF) وان هذه القوة هي الفرق الجبري للجهدين في نصفي الخليتين مع حذف العلامة وبالاتفاق عرف ان الجهد لقطب الهيدروجين القياسي يساوي صفرا في جميع درجات الحرارة ، هذا ويمكن معرفة الجهد لدى قطب آخر بالرجوع الى قطب الهيدروجين الطبيعي فعندما توصل قطبي الهيدروجين والخارصين كما في شكل (٥١) فأن جهاز قياس الفولتية Voltmeter سوف يسجل القوة الكهربائية الدافعة (EMF) بالفولتات وان الاميتر يبين اتجاه التيار (وسيكون بعكس اتجاه سير الالكترونات) ، ولما كان



شكل (٥١) خلية الكتروليكية تحتوي على نصف خلية للخارصين وللهيدروجين .

الجهد الكامن في الهيدروجين قد افترض ليكون صفراً فأن الفولتميتر سوف يقيس بالافتراض ايضاً فرق الجهد بين الخارصين وايوناته ، والعلامة التي توضع قبل الفرق في الجهد تحدد وتقرر بواسطة اتجاه سير الالكترونات .

ان الالكترونات تتحرك او تتجه من المكان ذي الجهد الواطيء الى المكان ذي الجهد العالي اي من جهد الى جهد اخر اكثر ايجابية وبما ان التيار يسير من قطب الهيدروجين الى قطب الخارصين فان اتجاه الالكترونات سيكون من قطب الخارصين الى قطب الهيدروجين وان فرق الجهد بين الخارصين وايوناته هو اكثر سلبية من الجهد بين الهيدروجين وايوناته وعليه فهو يحمل علامة سالبة وفي هذه الحالة يكون

$$E_h\ (Zn \rightleftharpoons Zn^{2+}) = -\ 0.77\ \text{Volt}$$

(E_h = جهد القطب للخارصين بالنسبة لقطب الهيدروجين) ان جهد القطب يتغير تبع تركيز الايونات في المحلول . ففي هذا المثال وعندما تكون فعالية ايونات الخارصين تساوي وحدة واحدة (تقريباً في محلول تركيزه مولار واحد) ان جهد القطب E_h يساوي الجهد القياسي E_o . في E_h يمثل h مقارنة مع قطب الهيدرجين القياسي ولكن من الصعب التعامل مع قطب الهيدروجين القياسي لذلك وفي العادة

يتم ايجاد جهد الاقطاب على مقياس قطب الهيدروجين بصورة غير مباشرة وذلك بايجاد القوة الكهربائية الدافعة للخلية المكونة من القطب المقصود وقطب آخر مناسب يصبح مرجعاً (الذي يكون جهده مقاساً بصورة مضبوطة) نسبة الى جهد قطب الهيدروجين . ومن انواع هذه الاقطاب التي تستعمل كمرجع قطبا الكالوميل وكلوريد الفضة . وعندما يستعمل الكالوميل المشبع Saturated Calomel Electrode (SCE) والذي له جهد (E_h) = + ٠,٢٤٦ . كقطب مرجع تكون القوة الكهربائية الدافعة (EMF) بين قطب الخارصين وهذا القطب تساوي ـ ٠,٧٧٠ - (+ ٠,٢٤٦) = - ١,٠١٦ فولت تمثل كالاتي :

$$E_{SCE}\ (Zn \rightleftharpoons Zn^{2+}) = -\ 1.016\ V$$

وبما ان تأين الخارصين يحصل نتيجة لفقدان الكترونات لذلك يمكن اعتبار Zn^{2+} صورة مؤكسدة للخارصين والمعدن صورة مختزلة . ان فرق الجهد (E) بين الخارصين وايوناته يعبر عنها بمعادلة نرنست Nernst

$$E_h = E_o + \frac{RT}{NF}\ Ln\left(\frac{A_{OX}}{A_{RED}}\right)$$

فرق جهد = جهد القطب القياسي + (ثابت الغاز × درجة الحرارة المطلقة) / (التكافؤ للايونات × ثابت فارادي) × لوغط (العامل المؤكسد / العامل المختزل)

عندما نجد معدنا على شكلين مؤكسدين مثل ايونات الحديديك والحديدوز مغمورين في محلول فسوف يتولد فرق جهد بين الاثنين واذا غمر قطب خامل من البلاتين في هذا المحلول الذي يخلى من الاوكسجين سوف تتجمع الكترونات على المعدن واذا ماقترن قطب البلاتين مع قطب الهيدروجين فسوف تمر الالكترونات من نصف خلية الهيدروجين الى نصف خلية الحديد . ان اتجاه هذه الالكترونات يدل على ان جهد الاول هو اقل من الجهد للثاني .

وهكذا وبنفس الطريقة تنتقل الالكترونات من قطب Zn/Zn^{2+} الى قطب Fe^{2+}/Fe^{3+}

وهكذا ففي التفاعلات البيولوجية وفي انظمة الاكسدة والاختزال فأن التفاعلات المتداخلة محكومة بنفس القوانين .

ملاحظة : اذا قيس ثابت الغاز (R) بالوحدات الكهربائية فانه يساوي ٨,٣١٤ فولت/ كولوم ويساوي كذلك ٨,٣١٤ جول/ درجة/ مول . اما ثابت فاراداي فانه يساوي ٩٦,٥٠٠ كولوم .

في الدرجة الحرارية ٣٠ْم وهي الدرجة التي تستعمل عادة عند قياس الاقطاب . العامل $RT / NF \times$ ٢,٣٠٣ (وقد حول لوغط الى لو للاساس ١٠) له قيمة تساوي ٦٪ عندما تكون N مساوية 1 . وبهذا تصبح المعادلة كما يلي : —

$$E_h = E_o + 0.06 \log \frac{(A_{OX})}{(A_{RED})}$$

حيث انه عند تحويل اللوغاريتم الطبيعي لعدد ما الى اللوغاريتم للاساس ١٠ يضرب ٢,٣.٣ × لوغارتم العدد للاساس ١٠ .

عندما تكون فعالية العامل المؤكسد والمختزل متساوية تصبح الكمية مساوية لصفر اي (+ ٦ .,. لو $\frac{\text{عامل إكسدة}}{\text{عامل اختزال}}$) = صفر

لان + ٦ .,. × ,,لو ١ = صفر

صفر = . × (+ ٠,٠٦)

وتصبح $E_h = E_o$

وبمعنى اخر ان جهد القطب القياسي هو نفس جهد القطب في حالة التعادل مع وحدة فعاليات ايوناته . الحالة التي يكون نظام اكسدة واختزال في محلول لايونين في حالتي اكسدة مختلفة فان الجهد القياسي سيكون هو الجهد الذي تكون فيه نسبة فعالية الايونين مساوية الى واحد . ان هذه القيمة تكون مختلفة باختلاف انظمة الاكسدة والاختزال وتعطي القياس للقابلية النسبية لذلك النظام لاستلام او اعطاء الالكترونات في تفاعلات الاكسدة والاختزال ، اي ليست لها علاقة بالتركيز الا اذا أثر التركيز على الفعالية . اي ان EMF تبقى ثابتة وغير معتمدة على التراكيز مادامت نسبة تركيز العامل المختزل الى العامل المؤكسد تساوي ١ . ان جهد الاكسدة والاختزال REDOX هو قياس لشدة الاكسدة او الاختزال وليس قياساً لسعة او استيعاب الاكسدة والاختزال بنفس الشكل الذي تكون فيه الـ pH قياساً للحامضية او القاعدية لنظام معين ولكن ليس قياساً لقدرته على تلطيف الحامضية او القاعدية (BUFFERING) . ان كمية الالكترونات التي يمكن ان تنتقل تعتمد على تركيز مكونات هذا النظام (اكسدة ــ اختزال) . عند فحص التغيرات التي تحصل في الجهد القياسي لـ Fe^{2+} / Fe^{3+} كدالة للرقم الهيدروجيني (pH) للمحلول نجد ان الجهد القياسي هو نفسه على مدى واسع للـ pH ولكن هذا الثبات لايوجد في تفاعلات تدخل فيها ايونات الهيدروجين وهنا تتغير القيمة تبعاً للـ pH . ان القياس المباشر للجهد القياسي يكون صعباً وذلك لعدم التأكد من التراكيز الدقيقة للمواد المشمولة او التاخر في الحصول على حالة التعادل عند استعمال معدن خامل للقطب .

قياس الجهد القياسي عندما تكون تراكيز المواد المشمولة غير مضبوطة

ان الشكل الكامل التأكسد (١٠٠٪ اكسدة .٪ اختزال) للنظام مثل (الكوينون) يذاب اولاً في محلول يكون تركيز ايون الهيدروجين فيه محدد مثل المحلول الداريء Buffer تضاف بعد ذلك كميات محسوبة من محلول مختزل وبانعدام وجود الاوكسجين على ان يبقى المحلول في حالة اهتزازية Agitated بواسطة تيار من النتروجين . يقاس جهد قطب خامل مثل قطب البلاتين مغمور في المحلول المتفاعل بعد كل اضافة للمحلول المختزل Titrant . وفي النقطة التي يحصل فيها تغير سريع في الجهد يكون الجهد في حالة الاختزال الكامل للمادة ان كمية المادة المختزلة (X_c) المضافة في هذه النقطة تكافىء كل المركب العضوي الموجود في الاصل بشكله المؤكسد . ويمكن حساب نسب تراكيز الشكل المؤكسد الى المختزل من كميات المادة المضافة على مراحل وفي كل مرحلة يمكن حساب الجهد القياسي لقيم متعددة حسب المعادلة

$$E_h = E_o - \frac{RT}{NF} \ In \ \frac{(A_{OX})}{(A_{RED})}$$

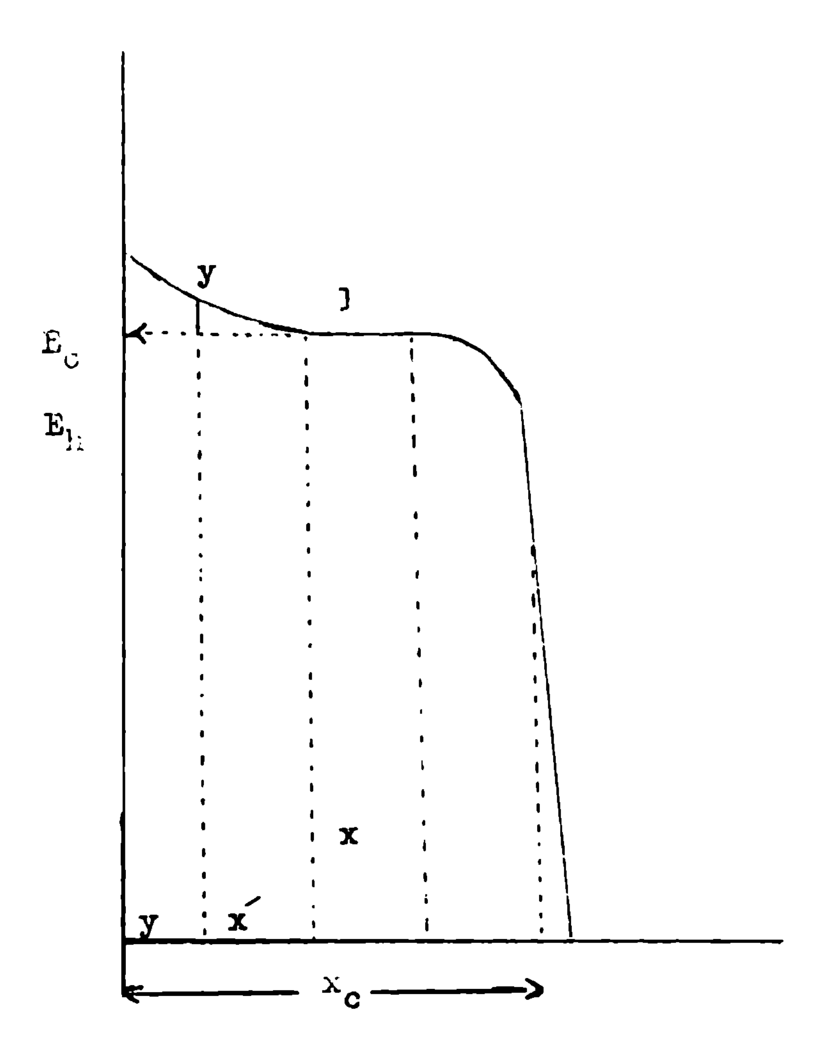
$$= E_o - \frac{RT}{NF} \ in \ \frac{X_c - X}{X}$$

عندما يكون النظام مختزل جزئياً فان مقدار الاختزال او درجة الاختزال يمكن ان تعين دون معرفة لتركيز العامل المختزل المستعمل للتسحيح عندما تكون قيمة الجهد القياسي للنظام معروفة .

ان نقطة البداية في التسحيح يمكن اعتباره اعتبارها النقطة y في منحني الاكسدة والاختزال كما في شكل (٥٢) وهي تكافىء y مليليتر للمختزل . ان المنحني يبدأ في y مع تقدم الزيادة في المادة المختزلة بعد اضافة X^- مليليتر للمختزل وكالاتي : —

$$E_h = E_o - \frac{RT}{NF} \ In \ \frac{(A_{OX})}{(A_{RED})}$$

$$= E_o - \frac{RT}{NF} \ In \ \frac{X_C - (X^- + Y)}{(X^- + Y)}$$



شكل (٥٢) منحني التسحيح الجهدي

عندما تكون قيم E_h و E_o و $(\dot{X}_c - Y)$ .X^- معروفة يمكن عندئذ معرفة قيمة Y . وعندما تكون قيمة E_o غير معروفة للنظام تحت الدراسة ، عندما تكون حالة الاختزال التي يبدأ بها غير كبيرة يمكن قراءة قيمة E_o من نقطة الانعكاس Inflection point (1p) . ومن قيمة X^- في هذه النقطة (1p) يمكن قياس قيمة M التي تساوي $M = X_c - (x' - y)$ التي تكون حالة ٥٠ ٪ اختزال وهي النسبة المئوية لها عند البداية وان

$$\frac{M-X^-}{2M} \times \frac{100}{1}$$

فبالنسبة للاوساط الزرعية المستعملة لنمو الاحياء الجهرية يمكن اعتبار الوسط بكامل محتوياته على انه وحدة لنوع واحد من الايونات مكوناً بذلك نصف خلية وان EMF لهذا الوسط تمثل بـ Eh يمكن قياسها . لذلك يسحح الوسط على هذا الاعتبار باستعمال نصف خلية اخرى لنظام قياسي معمول به كالحديد لكون هذا المعدن له Eh غير معتمدة على الـ pH . ففي نقطة التعادل يكون

$$\frac{Fe^{2+}}{Fe^{3+}} = \frac{(\text{الوسط})^{Y}}{((\text{الوسط}))^{1+y}} \quad \ldots\ldots\ldots (1)$$

وذلك باعتبار الوسط بحالة المؤكسدة (الوسط) y + 1 وبحالته المختزلة (الوسط) y

ان معادلة نرنست لنصف الخلية (الحديد) هي

$$Eh = E^{o'}_{Fe} + \frac{RT}{nF} \ln \frac{Fe^{2+}}{Fe^{3+}} \quad \ldots\ldots\ldots\ldots (2)$$

ونصف الخلية للوسط الزرعي هي

$$Eh = E^{o'}_{\text{الوسط}} + \frac{RT}{nF} \ln \frac{(\text{الوسط})^{1+y}}{(\text{الوسط})^{y}} \quad \ldots (3)$$

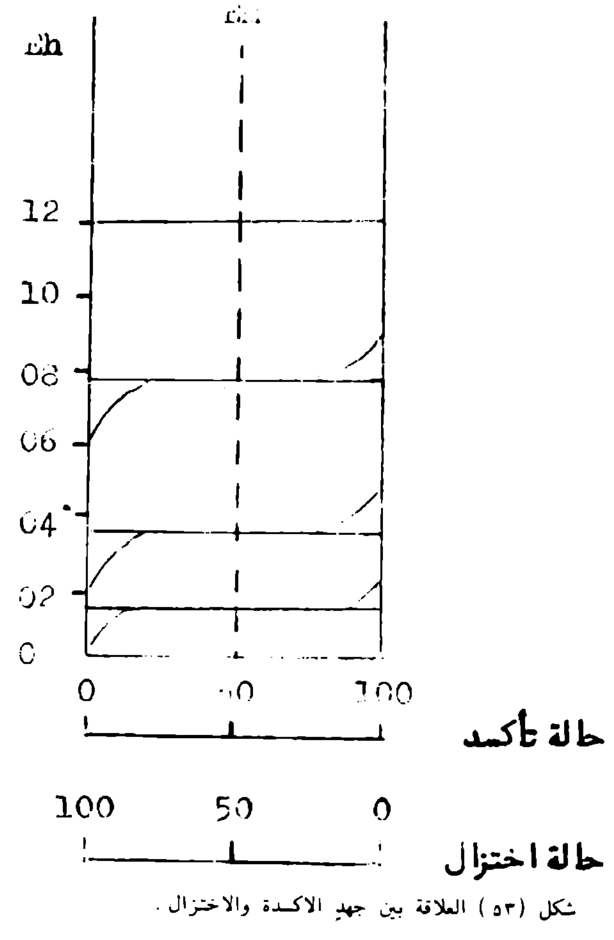
استناداً الى المعادلة الاولى يكون اللوغاريتم الطبيعي لنصفي الخليتين متساويان ولكن يختلفان في العلامة (احدهما موجب والاخر سالب) لذلك يكون حاصل جمعهما صفراً وبذلك تصبح Eh في نقطة التكافؤ ($Eh_{c.p.}$) مساوية الى نصف حاصل جمع Eh للحديد و Eh للوسط وكالاتي :

$$Eh_{e.p.} = \frac{1}{2} (Eh_{Fe} + Eh_{\text{الوسط}})$$

قياس الجهد القياسي بصورة مباشرة بالنسبة الى تباطيء حصول حالة التعادل

كلما كان حصول التعادل بطيئا كلما كان الخطأ في قياس الجهد اكبر ويمكن تغير بطء النظام بتعجيل العملية بواسطة نظام كهروحركي فعال الذي يطلق عليه وسيط الجهد Potential Mediator . كان للوسطاء فائدة في دراسة انظمة كانت غير فعالة لوحدها . ان الوسيط المستعمل يجب ان يملك جهدا اوسطا يقارب ذلك الجهد للنظام . وعندما يتعادل نظامان احدهما فعال والاخر غير فعال فأن النظامين يجب ان يكون لهما نفس الجهد تحت الظروف المستعملة . ولذا يجب ان يختار النظام الوسيط بصورة جيدة كي لايتأكسد او يختزل ١٠٠ ٪ بهذا النظام . وكذلك يجب ان يكون تركيز النظام الوسيط غير كافي لتغير حالة الاكسدة بصورة واسعة وملحوظة للنظام الذي نرغب قياسه وغالبا مايستعمل ادلة الاكسدة ـ الاختزال كوسائط لأن الوانها المتغيرة تساعد في اختيار الوسيط وان جهدها معلوم .

لقد تم الحصول على عدد من منحنيات تسحيحات جهدية Potentiometric Titrations كما تظهر في شكل (٥٣) . ان موقع المنحنى على سلم الاكسدة والاختزال يعتمد على الجهد القياسي للنظام والذي يتماشى الى ٥٠ ٪ اختزال . ان انحدار المنحنىَ يحدد بعدد الالكترونات التي تختلف فيها حالتي الاكسدة والاختزال . ويعرف الجهد القياسي للاكسدة والاختزال بالقوة الحركية الكهربائية (emf) مقاسة بالفولتات لنصف خلية في تمام نقطة الوسط لمنحنى التسحيح لمادة مختزلة وفي رقم هيدروجيني مقداره (٧) وبدرجة ٢٥ْ م وضغط جوي مقداره واحد مثل ما pK للحامض هي pH في نقطة الوسط لمنحني التسحيح للقاعدة والحامض . وان الجهد القياسي للاكسدة والاختزال يطلق عليه في معظم الاحيان بالجهد في نقطة الوسط . ان اغلب الانظم البيولوجية تشمل تغيراً في الكترون واحد او الكترونين وان الجهد يختلف بمقدار ٠,٠٦ و ٠,٠٣ فولت على التوالي في كل تغير مقداره عشرة مرات في النسبة بين الموكسد والمختزل . إن نقطة الوسط في ٥٠ ٪ اختزال يرمز لها بـ E_M حيث تكون M نقطة الوسط . البعض يستعمل E_0 لهذه القيمة لان قيم E_M تتغير او تختلف في الانظمة المختلفة بالنسبة الى تركيز ايون الهيدروجين (H^+) ان الرقم الهيدروجيني pH يمثل باضافة رقم آخر يتعلق



شكل (٥٣) العلاقة بين جهد الاكسدة والاختزال .

بهذه الـ pH وعلى سبيل المثال فان E_{M7} يدل على الجهد في ٥٠ ٪ اختزال في رقم هيدروجيني مقداره ٧ ولذلك تكون معادلة ترنست في قياسات جهد الاكسدة والاختزال كالاتي : –

$$E_h = E_M \quad \frac{RT}{NF} \ \text{in} \ \frac{[A_{OX}]}{[A_{RED}]}$$

وفي الحالة التي يختزل العامل المؤكسد لنظام معكوس Reversible بواسطة عامل مختزل لنظام معكوس آخر (او العكس) فأن نسبة قيم E_M للنظامين تمكننا من تحديد صحة نقطة النهاية . ويحدد الجهد قبل نقطة التكافؤ بواسطة النظام المسحح لكونه موجود بكمية اوفر ويحدد الجهد بعد نقطة التكافؤ بواسطة النظام المسحح . وعندما يكون الجهد القياسي (نقطة الوسط) لهذين النظامين متباعدا نحصل على دقة اكبر للقياسات ويمكن الحصول على نتائج صحيحة اكثر .

ان الجهد القياسي يجب ان يختلف على الاقل بمقدار ٠,٣٥ فولت اذا كانت N هي وحدة للنظامين وبمقدار ٠,٢٦ فولت اذا كانت N وحدة لنظام ووحدتين للآخر . وبمقدار ٠,١٨ فولت اذا كانت N ٢ اثنين لكلي النظامين .

تكون E_M (E_o) هي قياس شدة اكسدة او اختزال نظام معين . ويمكن ان تستل قائمة لانظمة الاكسدة والاختزال بترتيب الجهود القياسية لاقطابها فأن أي نظام فرضا له القابلية على ان يتأكسد بنظام آخر اكثر ايجابية ويختزل بأي نظام اكثر سلبية منه مثل الجدول (٤) التالي :

جدول (٤) الجهد القطبي لبعض انظمة الاكسدة والاختزال

	قياس قوة اكسدة / اختزال (فولت)	pH
ماء ـ اوكسجين	٠,٨٢	٧,٠
ايون نتروز NO_2^- / ايون نترات NO_3^-	٠,٤٢	٧,٠
بيروكسيد / اوكسجين + ماء	٠,٣٠	٧,٠
سايتوكروم A ايون حديدوز Fe^{2+} / ايون حديديك Fe^{3+}	٠,٢٩	٧,٠
سايتوكروم C ايون حديدوز Fe^{2+} / ايون حديديك Fe^{3+}	٠,٢٢	٧,٠
بيوتيريل كواى / كروتونيل كواى	٠,١٩	٧,٠
سايتوكروم B_2 ايون حديدوز Fe^{2+} / ايون حديديك Fe^{3+}	٠,١٢	٧,٤
يوبيكوينون (اختزال / اكسدة)	٠,١٠	٧,٤
حامض سكوربيك / حامض اسكوربيك اللامائي	٠,٠٨	٦,٤
سايتوكروم B ايون حديدوز Fe^{2+} / ايون حديديك Fe^{3+}	٠,٠٧	٧,٤
حامض سكسنيك / حامض فيوميريك	٠,٠٣	٧,٠
ميثيلين زرقاء (اختزال / اكسدة)	٠,٠١	٧,٠
حامض الماليك / حامض اوكزالسيتيك	- ٠,١٧	٧,٠
حامض الماليك / حامض بيروفيك	- ٠,١٩	٧,٠
NADH + ايون هيدروجين /NAD^+	- ٠,٣٢	٧,٠
اسيتالدهايد + كواى / اسيتيل ـ كواى	-٠,٤١	٧,٠
هيدروجين / ايون هيدروجين	- ٠,٤٢	٧,٠
حامض الفا اوكسو كلوتاريك / حامض سكسنيك CO_2+	- ٠,٦٧	٧,٠
حامض البيروفيك / حامض الاسيتيك + CO_2	- ٠,٧٠	٧,٠

علاقات الطاقة في تفاعلات الاكسدة والاختزال

بما ان تفاعلات الاكسدة والاختزال تولد طاقة لذا يجب بحث بعض الاوجه الكمية لتغيرات الاكسدة في توليد الطاقة . لقد ذكر سابقا بأن التغير في الطاقة الحرة القياسية مقاسة بعدد الوحدات لكل مول يمكن قياسها من حالة التعادل في قياس ثابت التعادل K . ان حساب K يعتمد على توفر طريقة تحليلية لمختلف الاجزاء . وعندما يكون الفرق في الجهد E_M بين نظامين كبيرا تكون حالة التعادل بعيدة في احد الاتجاهين حيث يتعذر قياس التركيز النهائي للمركب الذي سوف يتأكسد بصورة مضبوطة . وبالامكان حساب التغير الحاصل في الطاقة الحرة المرتبطة بهذا التفاعل من جهدي النظامين المتفاعلين .

$$\Delta \text{ فرق الجهد } = \left(\frac{\text{ثابت الغاز} \times \text{درجة الحرارة المطلقة}}{\text{عدد الالكترونات} \times \text{ثابت فاراداي}}\right) \times \text{لوغط ك}$$

او :

عدد الالكترونات × ثابت فاراداي × Δ فرق الجهد = ثابت الغاز × درجة الحرارة المطلقة × لوغط ك

لان دلتا فْ = ثابت الغاز × درجة الحرارة المطلقة × لوغط ك

= عدد الالكترونات × ثابت فاراداي × Δ فرق الجهد

ان Δ فْ هي الطاقة الحرة القياسية للتفاعل و N هي عدد الالكترونات (او ايونات الهيدروجين) المشمولة و F ثابت فاراداي (٩٦,٥٠٠ كولومب) دلتا فرق الجهد E_M هي الفرق بين قيم E_M لكلي النظامين . وحدة $F \Delta E_M$ هي كولومب فولت او جول والتي يمكن تحويلها الى الوحدات الاعتيادية للطاقة الحرة وذلك لا أن ٤,١٨ جول = ١ غم/ سعرة . وقيمةΔ فْ التي نحصل عليها لاكسدة مول واحد من المادة المختزلة .

مثال (١) تؤكسد الماليت الى اوكسالو استيتيت بواسطة السيتوكروم سي بشكل يوجد فيه تراكيز متساوية للجزيئات لكل من المواد المتفاعلة لأن قيمة E_M لنظام ماليت ــ اوكزالواسيتيت هو ــ ٠,١٧ فولت وللسايتوكروم سي مؤكسد ــ سايتوكروم سي مختزل هو ٠,٢٢ فولت

دلتا فْ = عدد الالكترونات × ثابت فاراداي × Δ فرق الجهد

$$= - ٢ \times \frac{(٠,١٧ -) - ٠,٢٢ \times ٩٦,٥٠٠}{٤,١٨}$$

= - ١٨,٠٠٧ سعرة

ولو استعمل الاوكسجين بدل السايتوكروم سي فستتحرر طاقة مقدارها ٤٥,٧١٥٨ سعرة لأن E_M التي تختزل الاوكسجين هي + ٠,٨٢ فولت وهذه الطاقة ستتوفر لانجاز عمل او شغل مفيد .

مثال (٢)

LACTATE + ACETALDEHYDE ⇌ PYRUVATE + ETHANOL

لاكتيت + استيالدهايد ⇌ بيروفيت + ايثانول

في pH مقدارها ٧ تكون قيمة E_M لنظام لاكتيت بيروفيت هي ـ ٠,١٩ فولت ولنظام ايثانول ـ استيالدهايد هي ٠,٢٠ فولت

دلتا فْ = - عدد الالكترونات × ثابت فاراداي × دلتا فرق الجهد

ففي التفاعل اعلاه تكون N = ٢ دلتا فرق الجهد

= - ٠,٢٠ ـ (- ٠,١٩) = - ٠,٠١

وعندئذ دلتا فْ = $\frac{\text{-٢} \times \text{٩٦٥٠٠} \times (\text{-٠,٠١})}{\text{٤,٨١}}$

= ٤٠١,٢٤٧

خزن وتحرر الطاقة :

ان جميع الاحياء المجهرية تحصل على طاقتها مما يتوفر منها في محيطها فالاحياء القادرة على التخليق الضوئي تستمد طاقتها من اشعة الشمس والاحياء العضوية التغذية تستمد طاقتها مما يتوفر لها من مركبات عضوية في البيئة والتي يمكنها ان تستغلها . ان هذه الطاقة المستمدة من البيئة تحول الى طاقة كيمياوية داخل هذه الاحياء . معظم الطاقة الكيمياوية توجد على على شكل آصرة في المركب ادينوسين الثلاثي الفوسفات ATP وهذه تعمل كحامل لتلك الطاقة لنقلها الى التفاعلات او العمليات التي تحتاج الى طاقة مثل تفاعلات الايض ، الحركة ، الانقسام الخ .

استخلصت مادة ATP للمرة الاولى من خلاصة الالياف العضلية واعتقد بأن

لها علاقة بالطاقة عند تقلصاتها ولكن وجد بعدئذ انها تتحلل مائيا وبواسطة انزيمات في البروتين العضلي مايوسين وتصبح ادينوسين ثنائي الفوسفات ADP وفوسفات لاعضوية وبتحرير كميات كبيرة نسبيا من الطاقة . ان ADP هذه تعاد فسفرتها لاعادة تكوين ATP وهذه العملية تحتاج الى طاقة التي يمكن توفرها من اكسدة بعض المواد الغذائية او من مصادر اخرى للطاقة وتعاد دورة ATP في الخلية . ويمكن حساب كمية الطاقة المتحررة من تحلل ATP المائي من ثابت التعادل والتي يمكن قياسها من قياسات تحليلية . ولقد وجد ان كمية الطاقة المتحررة من تحلل جزيئة واحدة من ATP تحت ظروف قياسية وفي رقم هيدروجيني مقداره ٧ وفي درجة حرارة ٢٥°م تكون ٧,٣ كيلو سعرة . وهذه القيمة تم حسابها من العلاقة التالية :

دلتا فْ = ـ ثابت الغاز × درجة الحرارة المطلقة × لوغط ثابت التعادل ان قياس قيمة ثابت التعادل ك (K) من المعادلة ادناه يكون غير عملي

ادينوسين ثلاثي الفوسفات + ماء ⇌ ادينوسين ثنائي الفوسفات + فوسفات

وذلك لصعوبة معرفة وقت حصول التعادل ولصعوبة قياس تراكيز ATP و ADP عند هذا التعادل . وتكون هذه القياسات ممكنة على خطوات وحساب القيمة الكلية من جميع الطاقة المتحررة في كل خطوة .

فعلى سبيل المثال تحسب قيمة K ودلتا فْ لتفاعل ATP مع اي مركب عضوي مثل الكلوكوز وبمساعدة الانزيمات المتخصصة (الهكسوكاينيز في هذه الحالة)

ATP + كلوكوز $\xrightarrow{\text{هكسوكاينيز}}$ DAP + كلوكوز سادس الفوسفات

ان قيمة K للمعادلة السابقة هي

$$K\ (\text{ثابت التعادل}) = \frac{[\text{كلوكوز سادس الفوسفات}]\ [ADP]}{[\text{كلوكوز}]\ [ATP]} = ٦٦١$$

دلتا فْ = ـ ثابت الغاز × درجة الحرارة المطلقة × لوغط ثابت التعادل

= ـ ٢,٣٠٣ ثابت الغاز × درجة الحرارة المطلقة × لو ٦٦١

= ـ ٤,٠ كيلو سعرة/ مول

اما الخطوة التالية فيتم بموجبها حساب دلتا فَ عند تحلل الكلوكوز سادس الفوسفات المائي الى كلوكوز وفوسفات وبمساعدة انزيم فوسفاتيز

كلوكوز سادس الفوسفات + ماء ← كلوكوز + فوسفات

ان قيمة K في هذه الحالة = ١٧١ وقيمة دلتا فَ$_2$ تساوي – ٣,٣ كيلو سعرة/ مول، وعند جمع المعادلتين تكون قيمة دلتا فَ ATP هي مجموع دلتا فَ$_1$ في الخطوة الاولى ودلتا فَ$_2$ للثانية .

دلتا فَ ATP = – ٤,٠ + (– ٣,٣) = –٧,٣ كيلو سعرة/ مول

ان المركبات الثابتة (التي لاتتحلل مائيا بسرعة) تحتوي على طاقة حرة قليلة وذلك لان الطاقة الحرة القياسية لتحلل اي مادة مائيا هي الفرق بين الطاقة الحرة

للنواتج والطاقة الحرة للمواد المتفاعلة وان الكمية التي تحتويها مادة ما تعتمد على التركيب الكيمياوي لتلك المادة وعند تحلل المادة مائياً فالطاقة المتحررة تعتمد اضافة على ذلك على التركيب الكيمياوي لنواتج التحلل وان كمية الطاقة المتحررة تزداد كلما ارتفعت قيمة الرقم الهيدروجيني .

ان مركب الادينوسين ثلاثي الفوسفات يحتوي على ثلاثة جزيئات من الفوسفات احدها متصلة باصرة استر بسكر الرايبوز بالموقع الخامس اي ذرة الكاربون الخامسة لهذا السكر وهذه الاصرة تحتوي على طاقة اقل من الاصرتين الاخيرتين (من النوع اللامائي) التان تربطان جذر الفوسفات الثاني والثالث مع الجذر الاول . ان آصرة جذر الفوسفات ذات الطاقة العالية يرمز لها بالرمز ~p. ان هذا الرمز يعني ان فرق محتوى الطاقة بين المواد المتفاعلة عند التحلل المائي للمركب والمواد الناتجة من هذا التحلل هي عالية نسبيا . ان الطاقة العالية الموجودة في اصرة جذر الفوسفات هي ليست مايدعى بطاقة الاصرة الموجودة بين ذرتين والمستعملة في الكيمياء الفيزياوية والتي تعني كمية الطاقة التي نحتاجها لفصل او لكسر تلك الاصرة بين هاتين الذرتين .

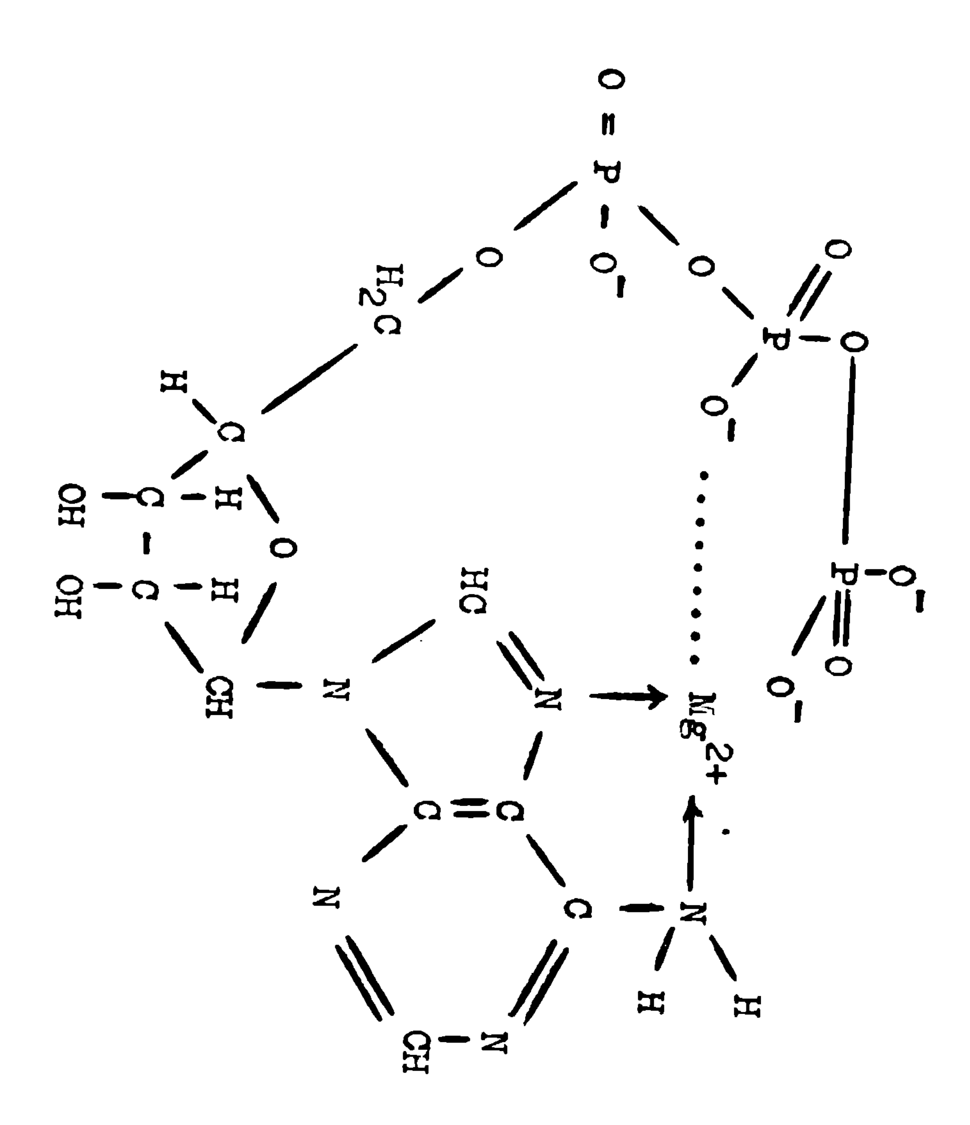
ان مدى تأين ATP يعتمد على الرقم الهيدروجيني في المحلول . ففي الخلية وبرقم هيدروجيني مقداره 7 تكون ATP متأينة بصورة كلية وتحتوي على عدد عالي نسبيا من الشحنات السالبة (اربعة) وهذه الشحنات السالبة تتنافر مع بعضها البعض بشدة لقربها الكبير . ان البعض من هذا الضغط الكهربائي يقل عند تحلل الجزيئة مائيا الى ADP^{3-} و HPO_4^{2-} . بما ان هذين الايونين هما سالبا الشحنة

ادنين

هذين الايونين هما سالبا الشحنة فأنها سيتنافران ايضا ولا يعودان لتكوين A1P بسهولة . ان ظاهرة التنافر هذه تميز هذه الجزيئة عن الجزيئة التي تحمل طاقة واطئة وذلك لان الجزيئات التي تحملها (مثل كلوكوز سادس الفوسفات) وعند تحللها المائي لاتمتلك التنافر الكافي لكي تبقى متحللة وذلك لان احد النواتج وهو الكلوكوز لايمتلك شحنة لذلك فأن له القابلية على ان يرجع ليتفاعل مع جذر الفوسفات لتكوين كلوكوز سادس الفوسفات ثانية .

ان ذرتي الفوسفور النهائيتين في جزيئة ATP لها قدرة عالية على التمسك بالالكترونات لذلك يمكنان الجزيئة من البقاء بصورة متحللة . ان الاواصر بين جذري الفوسفات الموجودتين قرب بعضهما والتي تحتوي ATP على اثنتين منها و ADP على واحدة منها هي من النوع غير المائي (Anhydride) أما الاصرة بين حامض الفوسفوريك وسكر الرايبوز فهي من النوع الاستر (Ester) ، مما يؤدي الى اختلاف في كمية الطاقة الحرة المتولدة عن تحللها . بصورة عامة ان الطاقة الحرة القياسية الموجودة في اصرة الاستر عند تحللها المائي هي اقل من الطاقة الحرة القياسية في اصرة غير المائية .

بما ان جذور الفوسفات الثلاث في جزيئة ATP متأينة بصورة كاملة في الخلية فأن ذلك يمكنها من التفاعل مع ايونات ثنائية التكافؤ موجبة الشحنة مثل ايون المغنسيوم Mg^{2+} وايون الكالسيوم Ca^{2+} لتكون مركبات ثابتة . ان جزيئة ATP في الخلية توجد على هذا الشكل من المركبات الثنائية بصورة رئيسية كما في الشكل .



لذلك لايوجد ATP بشكل ايون سالب الا بدرجة قليلة . ان تواجد ايون المغنسيوم Mg^{2+} يؤثر ايضا على الطاقة الحرة للادينوسين ثلاثي الفوسفات وذلك لان هذا المركب وكما قلنا سابقا يحتوي على اربعة شحنات سالبة (ATP^{4-}) وعند تأينه يولد الايون ADP^{3-} الذي يحتوي على ثلاث شحنات سالبة والاخير يولد الايون HPO_4^{2-} . ان هذه الايونات الثلاث لها القدرة على التفاعل مع ايون المغنسيوم الموجب كما في التفاعلات العكسية التالية :

$$Mg^{2+} + ATP^{4-} \rightleftharpoons MgATP^{2-} + H^+$$
$$Mg^{2+} + ADP^{3-} \rightleftharpoons MgADP^- + H^+$$
$$Mg^{2+} + HPO_4^{2-} \rightleftharpoons MgHPO_4 + H^+$$

ان مــدى تأين ATP يعتمد ايضا على تركيز ATP و ADP وجذر الفوسفات في الماء الموجود داخل الخلية . لذلك تؤثر العوامل الثلاث التي سبق ذكرها وهي الرقم الهيدروجيني وتركيز ايون المغنيسيوم وكمية الماء على الطاقة الحرة للتحلل المائي للادينوسين ثلاثي الفوسفات داخل الخلية . لذلك نجد ان هذه الطاقة في الخلية تبلغ مايقارب الـ ١٢,٥ كيلو سعرة ولكن ليس من الضروري ان تكون هذه القيمة ثابتة دائما في الخلية . فهي قد تختلف من وقت لاخر حسب تغير هذه العوامل الثلاثة التي سبق ذكرها . ان تصنيف المركب على انه عالي او واطىء الطاقة يعتمد على التغير الحاصل في الطاقة الحرة القياسية دلتا فْ عند تحللها المائي . ان المركبات التي تحتوي على جذر الفوسفات في الخلية متعددة وليست فقط ATP . فالبعض من هذه المركبات تغير الطاقة الحرة القياسية للتحلل اكبر من تلك القيمة لمركب ATP . ان احــــد هـــــذه هو فوسفـــــات الكلسيرول الثـــــالثـــــة الفسفرة 3- Phosphoglycerol Phosphate والتي تبلغ هذه القيمة لها ١١,٨ كيلو سعرة لكل مول . كما وتوجد مركبات يكون مقدار التغير في الطاقة الحرة القياسية لها اقل من ATP مثل الكلوكوز سادس الفوسفات التي تبلغ ــ ٣,٣ كيلو سعرة لكل مول .

ان ATP تتوسط هاتين القيمتين حيث ان مقدار التغير في الطاقة الحرة القياسية عند تحللها المائي وكما اسلفنا هو ــ ٧,٣ كيلو سعرة لكل مول . ان وجود مادة ATP بمركز وسط تقريبا بين المركبات الحاوية على جذر الفوسفات يمكنها من نقل هذا الجذر من المركبات الاعلى منها الى الاوطأ منها في السلم .

سبق وان ذكرنا ان الاحياء الجهرية تحصل الطاقة مما يتوفر لها في المحيط او البيئة من مركبات كيمياوية مما تتغذى عليه تلك الاحياء او من الطاقة الشمسية وتخزنها في ATP لاستعمالها عند الحاجة . يوجد نوعان رئيسيان من التفاعلات يتم بموجبهما تحويل الطاقة هذه الى طاقة مخزونة في ATP وهذا ن هما اولا فسفرة

المركب الكيمياوي نفسه . في هذه الحالة يحتوي المركب على قيمة دلتا فْ (ΔF^{o}) اعلى من قيمتها لمركب ATP فالحصول على ATP يتفاعل هذا المركب مع ADP . ان هذا الطريق للحصول على طاقة مخزونة في ATP من دخول ADP في تفاعل يتطلب وجود المركب الذي يتمكن من منح تلك الطاقة لكي تخزن في ATP . اما الطريق الاخر وهو الاكثر اهمية في معظم الاحياء الجهرية والذي يعرف بعملية الفسفرة المؤكسدة . (Oxidative Phosphorelation) فتتولد فيه ATP و ADP عن طريق تفاعلات الاكسدة والاختزال والتي سبق وان ذكرنا كيــــف تتحرر فيهـــــا الطـــــاقـــــة لـــــلاستفــــادة منهـــــا في تفاعلات تحتاجها . فكل تفاعل من نوع الاكسدة والاختزال يجري بالاقتران مع تفاعل آخر من نفس النوع فاذا تأكسدت مادة من التفاعل الاول لتظهر بشكلها المختزل في نفس التفاعل يجب ان تختزل مادة اخرى من التفاعل الثاني لاستلام الالكترونات التي تحررت من اكسدة المادة الاولى كما وان المادة التي تأكسدت كانت بشكل مختزل وهذان الشكلان يدعيان بزوج الاكسدة والاختزال فمثلا

$$NADH + Oxaloacetate \rightleftharpoons NAD^{+} + malate$$

مختزل ماليت مؤكسد مؤكسد اوكزالواستيت مختزل نيكوكوتين امايد ادنين ثنائي النيوكليوتايد

فأن $NADH\text{-}NAD^{+}$ هما زوج اكسدة واختزال . وان ماليت اوكزالو استيت يمثلان زوجا آخر . ان هـذان الزوجـان يختلفـان في قـدرتيهما عـلى جـذب الالكترونات . ان الزوج الذي يتصرف كعامل مؤكسد هو الزوج الذي له قدرة أعلى على جذب الالكترونات والعكس بالعكس فالذي قدرة جذبه للالكترونات واطئة هو الذي سيكون الزوج المختزل . وقد سبق وان عرفنا هذه القدرة على الجذب بأنها القوة الدافعة الكهربائية (EMF) وهذا الجهد يدعى بالجهد القياسي للاختزال ويرمز له E_{o} . لذلك يمكن تنظيم ازواج الاكسدة والاختزال بجداول حسب قيم هذا الجهد ويمكن ان نحسب كمية الطاقة من معرفتنا لهذا الجهد حسب العلاقة التالية :

$$\Delta F^{o} = - NF \Delta E_{M}$$

دلتا فْ = - عدد الالكترونات × ثابت فرداي × دلتا القوة الدافعة

بما ان ATP ⟵ ADP + فوسفات مع تحرير طاقة مقدارها ـ ٧,٣ كيلو سعرة لكل مول . فأن ATP لاتخلق الا اذا كانت الطاقة المتوفرة من عمليات الاكسدة والاختزال اكبر من ٧,٣ كيلو سعرة لكل مول . ان هذه الكمية من الطاقة تتوفر اذا كانت الفروق بين قيم E_{M} لزوج الاكسدة والاختزال بمقدار ١٧٠ ملليفولت او اكثر عند ذاك تكون قيمة ΔF^{o} من عمليات الاكسدة والاختزال كافية لتخليق ATP من ADP .

عمليتا التنفس والتخمر

سبق وان قسمنا الاحياء المجهرية بالنسبة الى طبيعتها الغذائية او بالاحرى الى طبيعة مصدر الكربون الى ذاتية التغذية وعضوية التغذية اما بالنسبة لمصدر الطاقة فيتم تقسيمها الى قسمين رئيسيين ايضا فالاحياء التي تستمد حاجتها من الطاقة من الضوء والاخرى التي تستمدها من تفاعلات كيمياوية (تفاعلات اكسدة واختزال) والاخيرة يمكن تقسيمها بالنسبة الى طبيعة المصدر المعطي للالكترونات والذي يتأكسد ليوفر الطاقة . تختلف المجموعة الاخيرة من الاحياء المجهرية فيما بينها بقدرتها على اكسدة هذه المصادر فالبعض منها له القدرة على اكسدة مركبات لاعضوية بسيطة مثل الهيدروجين او كبريتيد الهيدروجين او الامونيا او الكبريت والبعض الاخر يمتلك القدرة على اكسدة مركبات عضوية كالكربوهيدرات والاحماض الامينية والاملاح العضوية وغيرها .

ان الاحياء المجهرية عضوية التغذية التي تستمد طاقتها من اكسدة مركبات عضوية بتحرير الالكترونات من تلك المركبات وتحويلها عبر ممرات وانظمة معينة الى مستلم معين . فاذا كان مستلم الالكترونات مركب عضوي فالعملية تدعي تخمر (Fermentation) واذا كان المستلم الاخير للالكترونات مركب لاعضوي فالعملية تدعي بالتنفس اللاهوائي (Anaerobic Raspiration) واذا كان المستلم الاخير للالكترونات هو الاوكسجين فالعملية تدعى بالتنفس الهوائي (Aerobic Respiration)

ان بعض انواع الاحياء المجهرية لاتعتمد على طريقة دون اخرى فمثلا البعض من انواع البكتريا يستطيع القيام بعمليتي التنفس الهوائي واللاهوائي حسب مايتوفر من ظروف بيئية وهذه الانواع تدعى بالاختيارية (Facultative) .

المصادر العضوية للطاقة

تستعمل المركبات العضوية كمصادر للطاقة من قبل الاحياء المجهرية عضوية التغذية وهذه المصادر تشمل مجموعة كبيرة من تلك المركبات كالكربوهيدرات بانواعها المختلفة والمركبات النتروجينية مثل الاحماض الامينية والبيورين والبرمدين والدهنيات مثل املاح الكليسرول والاحماض الدهنية والهيدروكربونات مثل الالكينات (Alkanes) والالكينات (Alkenes) والمركبات الارومية

(Aromatic) والمركبات ثنائية ووحيدة الكربون . فالاحياء المجهرية تؤكسد هذه المركبات وتحولها الى مركبات تستخدمها كوحدات بنائية لمختلف تراكيب خلاياها .

أ ـ الكربوهيدرات

ان المركبات الكربوهيدرات هي الاكثر شيوعا واستعمالا في الاوساط الزرعية المختبرية لتنمية الاحياء المجهرية ويمكننا القول بأن جميع المركبات الكربوهيدراتية ومشتقاتها تستخدم كمصادر للطاقة من قبل مجموعة معينة من الاحياء المجهرية بحيث استعملت قدرة الاحياء المجهرية على اكسدة الكربوهيدرات ودراسة نواتجها كوسيلة لتصنيف هذه الاحياء فالكربوهيدرات مثل متعدد السكريد كالنشاء والسليلوز والكايتين وثنائية السكريد مثل سكر اللاكتوز والمالتوز والسكروز والسكريات الاحادية السداسية الكربون مثل الكلوكوز والفركتوز والكالاكتوز والسكريات خماسية الكربون مثل الارابينوز والزايلوز واحماض السكريات مثل حامض الكلوكونيك والكلوكورونيك ومتعدد الكحول مثل المانيتول والكليسرول جميعها تستخدم مصادر للطاقة وتستعمل كوسيلة للدراسة التصنيفية . مما لاشك فيه ان طرق اكسدة جذر المركبات الكربوهيدراتية المختلفة تختلف حسب نوع المركب ولكن توجد اربعة طرق يمكن اعتبارها رئيسية لاكسدة المركبات الكربوهيدراتية هي :

١ ـ طريق امدن ـ مايرهوف ـ بارناس
Embden- Meyerhof- Parnas (EMP)

٢ ـ طريق السكر سداسي الكربون احادي الفوسفات
Hexose Monophosphate Pathway (HMP)

او مايسمى بطريق واربورغ ـ دكنس
Warburg- Dickens Pathway

٣ ـ طريق الفوسفوكيتوليز — Phosphoketolase (PK)

٤ ـ طريق انتنر ـ دودروف — Entner- Doudoroff (ED)

لتسهيل فهم هذه العمليات الاربعة اختير سكر الكلوكوز كمثال على اكسدة الكربوهيدرات لان غالبية الاحياء المجهرية التي تؤكسد الكربوهيدرات لها القدرة

على اكسدة هذا السكر . اما بقية الكربوهيدرات فتدخل احدى هذه الطرق بممرات مختلفة حسب نوع المادة الكربوهيدراتية .

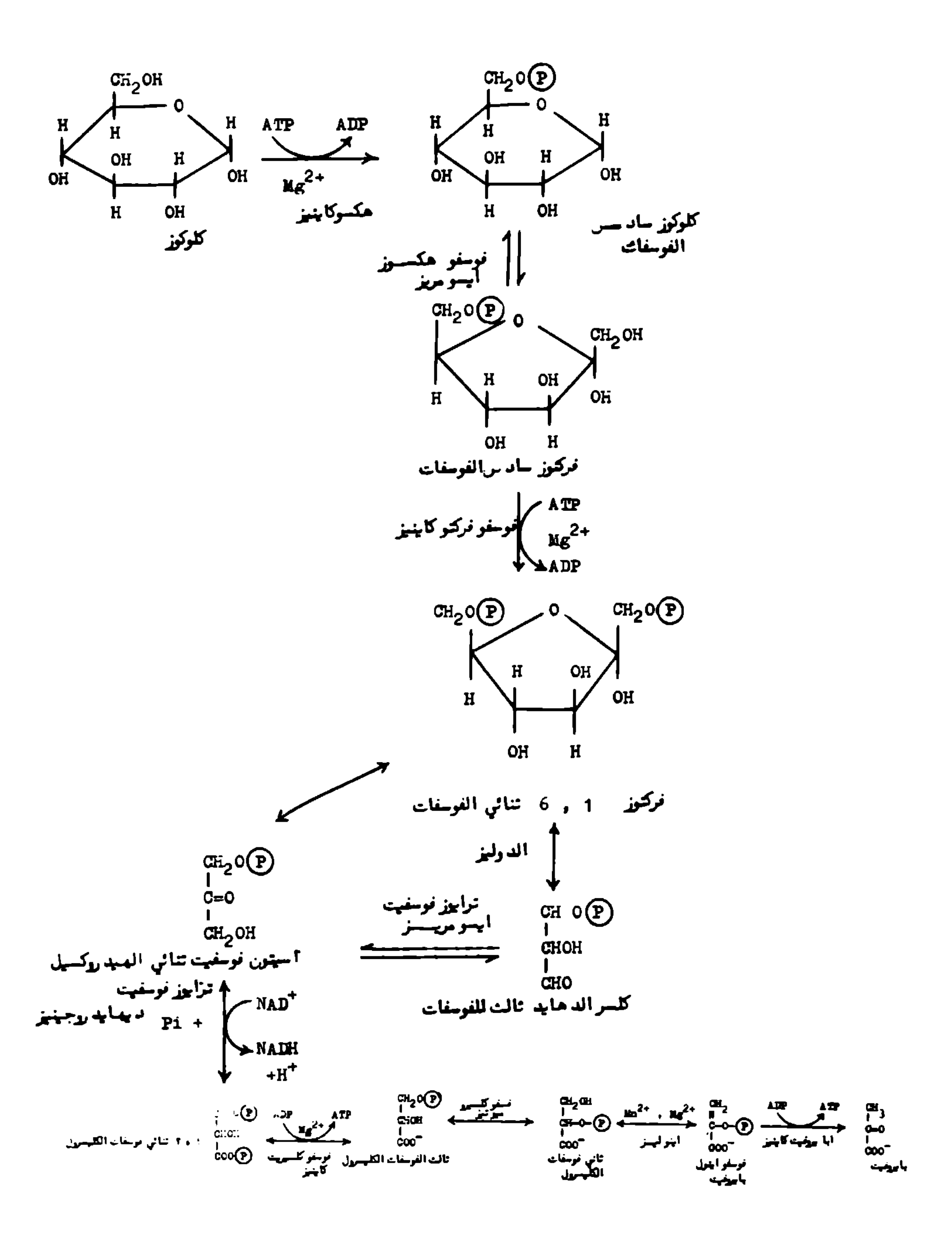
١ ـ طريق امدن ـ مايرهوف ـ بارناس

ان خلاصة هذا التفاعل هو تحويل كل جزيئة من سكر الكلوكوز الى جزيئيتين من البايروفيت اي تحويل مركب كربوهيدراتي يحتوي على ست ذرات كربون الى اخر يحتوي على ثلاثة . اما مقدار الطاقة المتحررة(ΔG^1) من هذه العملية فهي حوالي ٤٧ كيلو سعرة . ان جزء من هذه الطاقة يخزن في ATP . ان العدد النهائي من جزيئات ATP التي تتخلق من كل جزيئة من السكر السداسي هي اثنين وذلك بعد طرح عدد جزيئات ATP المستهلكة خلال هذه التفاعلات . اذا كانت كل جزيئة من ATP تستهلك ٧,٣ كيلو سعرة لتخليقها فأن كمية الطاقة التي يستفاد منها هي ١٤,٦ كيلو سعرة . اي ان كفاءة هذا الطريق هو ٣٠٪ لان فقط ٣٠٪ من السعرات المتولدة تخزن كطاقة في ATP . ان هذا الطريق هو الممر الاساسي الذي تسلكه الخميرة **Sacharomyces Cerevisiae** عند تخمرها لسكر الكلوكوز وهو كذلك بالنسبة للبكتريا **Propionibacterium arabinosum** وبكتريا اخرى من مجموعة Homofermentative (الفصل الثامن) ان جميع التفاعلات في طريق امدن ـ مايرهوف ـ بارناس (شكل ٥٤) عكسية فيما عدا تفاعل فسفرة الكلوكوز والفركتوز سادس الفوسفات وتحول فوسفواينول بايروفيت الى البايروفيت ان اول تفاعل يشمل تنشيط سكر الكلوكوز بفسفرته ثم خلال التحولات تتولد جزيئتين من البايروفيت وتخلق اربعة جزيئات من ATP . اما التفاعل المميز في العملية كلها فهو تخليق جزيئتين لمركب حاوي على ثلاث ذرات كربون من مركب يحتوي على ستة ذرات لذلك يطلق البعض على هذا الطريق اسماء اخر وهو طريق السكر السداسي ثنائي الفوسفات (Hexose Diphosphate) . كما وان حصيلة التفاعلات هي ربح جزيئتين من ATP لكل جزيئة سكر تتأكسد . يلاحظ كذلك ان التحولات تشمل عمليات اكسدة يكون محرر الالكترونات ومستلمها مركب عضوي لذلك نرى ان العديد من المصادر تطلق عليها طريق امرن مايرهوف بارناس لتخمر الكلوكوز . ان جزيئتي البايروفيت المتحررتين عن هذا الطريق قد تتأكسد كلياً الى ثاني اوكسيد الكربون وماء خلال دورة الاحماض ثلاثية الكربوكسيل التي سبق وان ذكرناها ، او قد تتحول الى نواتج تخمير سنأتي على شرحها في الفصلين الثامن والتاسع .

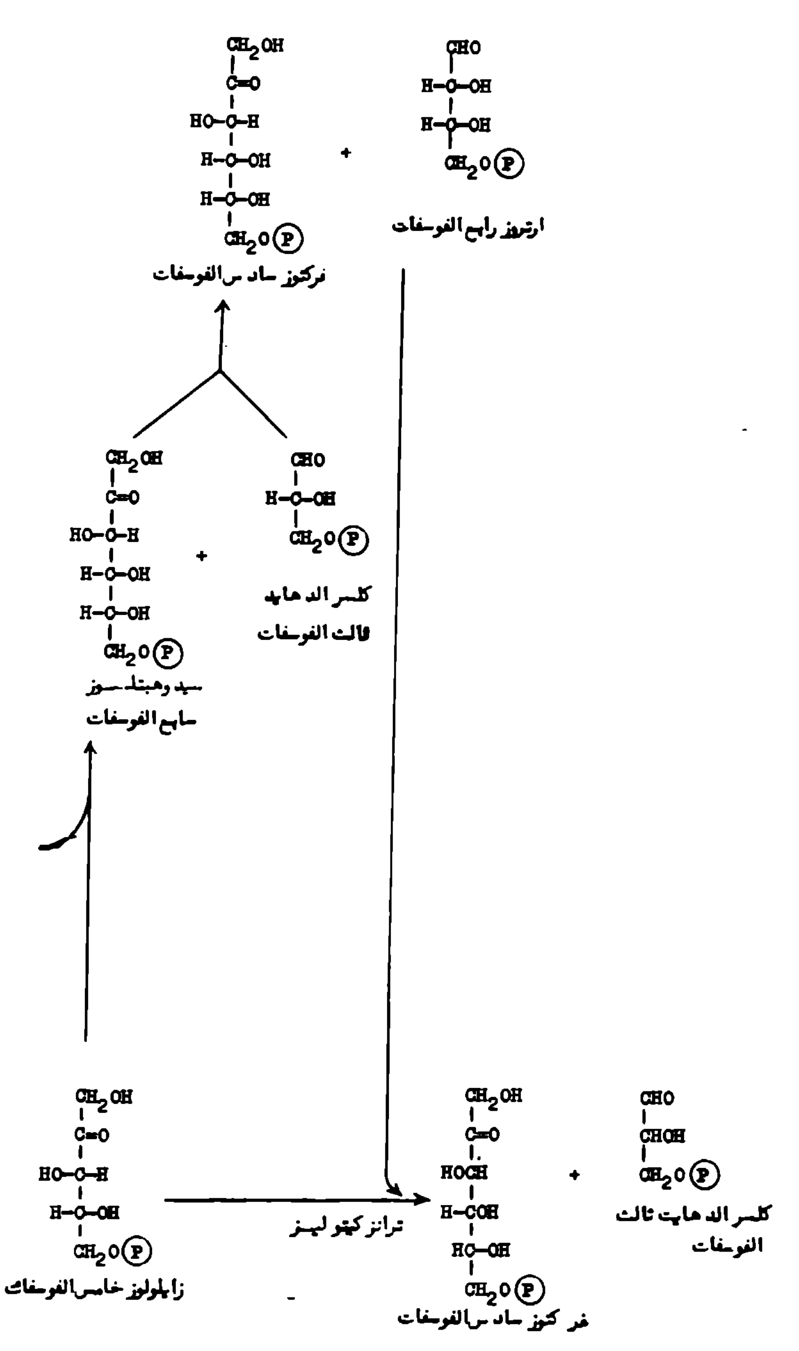
٢ ـ طريق السكر السداسي الكربون احادي الفوسفات

ان هذا الطريق يوضح كيفية اكسدة المركبات الكربوهيدراتية لتخليق السكر سداسي الكربون واحادي الفوسفات وسكر خماسي الكربون المفسفر في وقت واحد مع بعض تفاعلات الطريق الاول . يأخذ هذا الطريق اشكالا مختلفة في مختلف الاحياء المجهرية وذلك حسب توفر الانزيمات التي تحتاجها عمليات الاكسدة ويعتقد البعض ان هذا الطريق ليس اساسيا بالنسبة لتوليد الطاقة في معظم الاحياء المجهرية . ان هذا الطريق ولو انه لايولد طاقة بنفس الكفاءة التي يولدها الطريق الاول ولكن نواتجه مهمة بالنسبة للاحياء حيث يوفر لها السكر خماسي الكربون المفسفر لتخليق النيوكليوتايد والنيكوتين امايد ادنين داينيوكليوتايد فوسفيت بشكل مختزل ($NADPH_2$) لاستعماله عند الحاجة كعامل اختزال . ان هذا الطريق يسلكه معظم الاوقات الفطر بنسليوم كرايسوجينوم **Penicillium chrysogenum** وذلك هو الطريق المفضل بالنسبة للبكتريا بروسيلا ابورتس **Brucella abortus** وانواع من بكتريا تنتمي للجنس اسيتوباكتر **Acetobacter**.

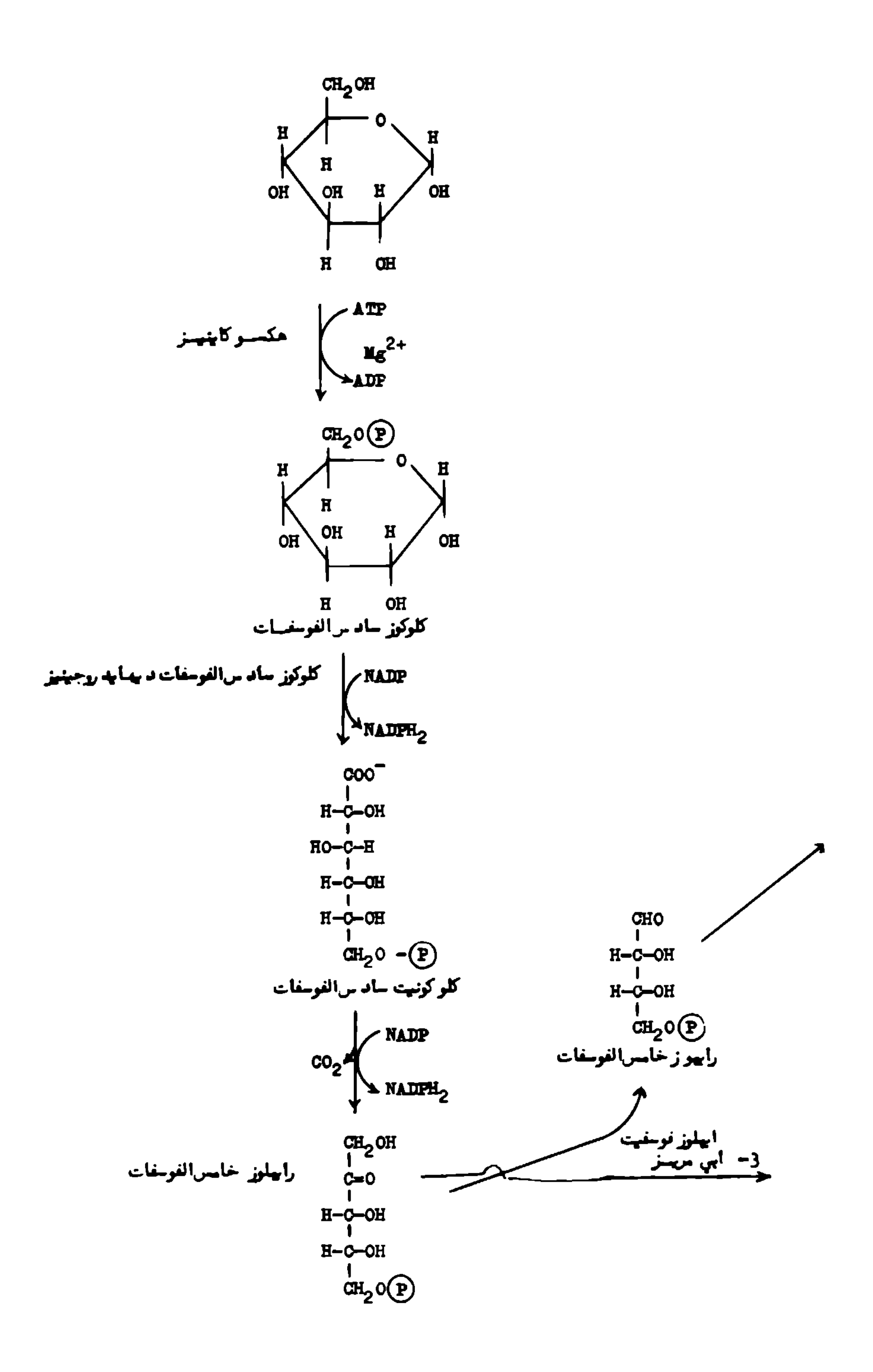
الشكل (٥٥) يوضح احد اشكال هذا الطريق في الاحياء المجهرية . لقد لاحظنا من الطريق الاول ان الكلوكوز يفسفر في بادىء الامر لتنشيطه ودخوله في مختلف عمليات الاكسدة . بعد عملية الفسفرة يؤكسد بواسطة انزيم مؤكسد وتنقل الالكترونات المتحررة الى NADP والاخير يختزل الى $NADPH_2$. ان ناتج التفاعل الاول من الكلوكوز هو كلوكونيت سادس الفوسفات الذي بدوره يؤكسد بتمرير الالكترونات الى جزيئة اخرى من NADP وتحويل السكر السداسي الكربون الى آخر خماس الكربون (رايبلوز خامس الفوسفات) بتحرير جزيئة من ثاني اوكسيد الكربون . يتحول بعدها السكر خماسي الكربون الى شكل آخر وهو اما زايللوز خامس الفوسفات وذلك بواسطة انزيم يدعي رايبلوز خامس الفوسفات ، ثلاثة ابي مريز او الى الرايبوز خامس الفوسفات بواسطة انزيم يدعى رايبوز فوسفيت ايسومريز . عند تكوين السكر الخماسي الاخير يختلف الشكل الذي تستمر فيه عملية الاكسدة بمختلف الاحياء المجهرية وتختلف نواتج العملية ايضا فقد يتحول هذا السكر الى كلسر الدهايد ثالث الفوسفات (وهو سكر ثلاثي الكربون) مع تحرير جزيئتين من ثاني اوكسيد الكربون . وهذا السكر الثلاثي قد يدخل في الطريق الاول ليحرر البايروفيت . ان دخول كلسر الدهايد ثالث الفوسفات للطريق الاول واستمراره في هذا الطريق الى البايروفيت سيخلق جزيئة واحدة من ATP او بالاحرى سيولد طاقة .



كلوكوز
هكسوكاينيز
ATP
ADP
Mg^{2+}
كلوكوز سادس الفوسفات
فوسفو هكسوز ايسومريز
فركتوز سادس الفوسفات
فوسفو فركتو كاينيز
فركتوز 1 , 6 ثنائي الفوسفات
الدوليز
ترايوز فوسفيت ايسومريز
أسيتون فوسفيت ثنائي الهيدروكسيل
كليسرالدهايد ثالث الفوسفات
ترايوز فوسفيت ديهايدروجينيز
NAD^+
NADH
$+H^+$
Pi +



تابع شكل (٥٥) يوضح طريق السكر سداسي الكربون احادي الفوسفات



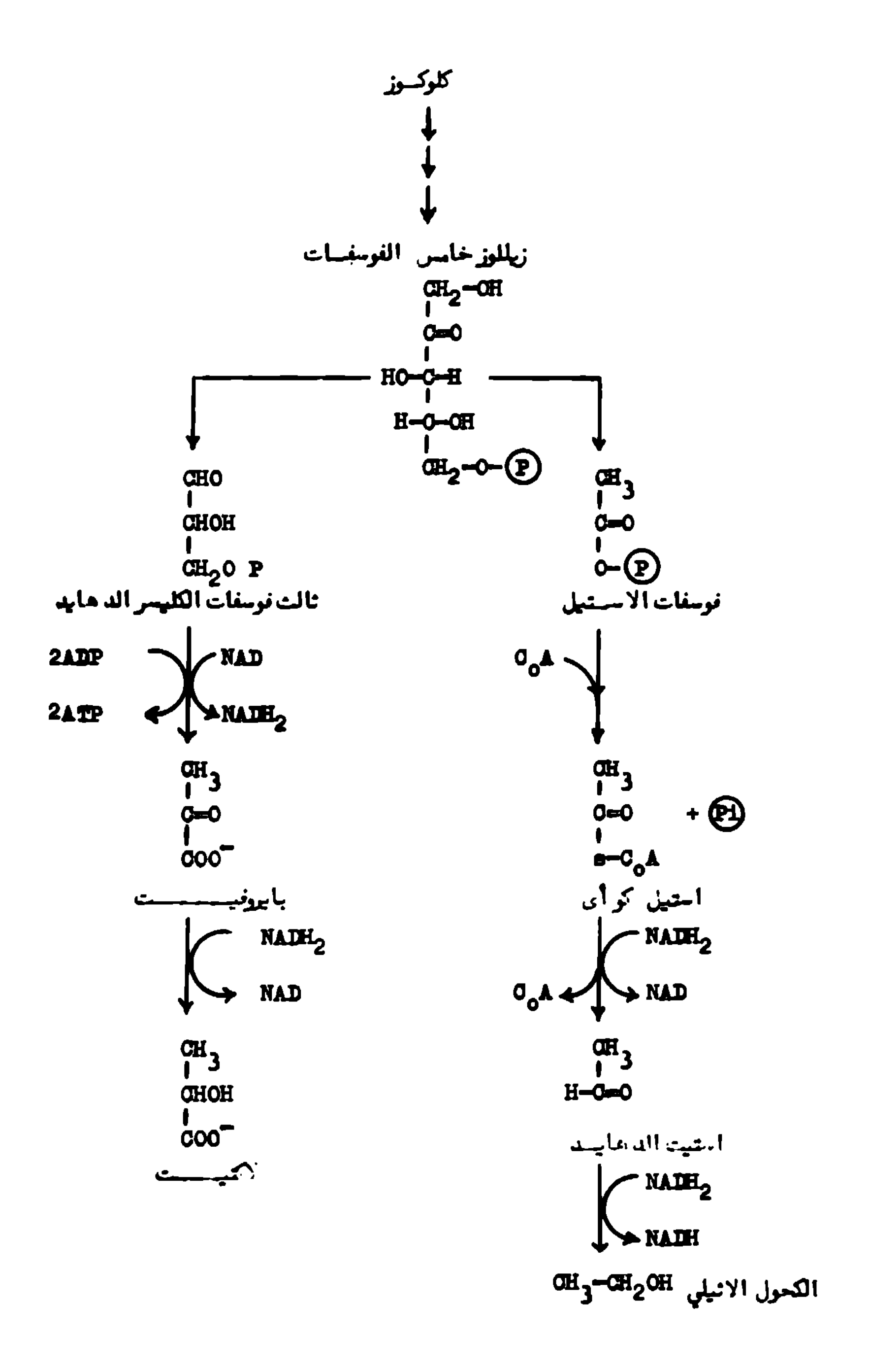
CH2OH
H
O
H
OH
H
OH
H
OH
H
OH
هكســو كاينيــز
ATP
Mg2+
ADP
CH2O P
كلوكوز سادس الفوسفات
كلوكوز سادس الفوسفات ديهايدروجينيز
NADP
NADPH2
COO-
H-C-OH
HO-C-H
H-C-OH
H-C-OH
CH2O -P
كلوكونيت سادس الفوسفات
CO2
NADP
NADPH2
CH2OH
C=O
H-C-OH
H-C-OH
CH2O P
رايبلوز خامس الفوسفات
CHO
H-C-OH
H-C-OH
CH2O P
رايبوز خامس الفوسفات
ايبلوز فوسفيت
3- ايبي مريز

ان الزايللوز خامس الفوسفات قد يتفاعل مع جزيئة من الرايبوز خامس الفوسفات لتوليد جزيئة سباعية الكربون وهي سيدوهبتلوز سابع الفوسفات واخرى ثلاثية الكربون وهي كلسر الدهايد ثالث الفوسفات وهذان المركبان الاخيران يتحدان لتكوين الفركتوز سادس الفوسفات ومركب رباعي هو الارثروز رابع الفوسفات وهذا التفاعل يدعى بالترانس الدوليز . ان المركب رباعي الكربون قد يتفاعل مع الزايللوز خامس الفوسفات وبمساعدة انزيم الكيتوليز ليولد فركتوز سادس الفوسفات وكلسر الدهايد ثالث الفوسفات . في التفاعلات التي يشترك فيها انزيما الترانس الدوليز والترانس كيتوليز تحول السكريات السداسية الكربون والخماسية الكربون الى مركبات كربونية اقل منها عددا في الكربون وكذلك تهيؤها للدخول في دورة الاحماض ثلاثية الكربوكسيل والتي سبق ذكرها في الفصل الخامس . كما وان هذه الانزيمات وبالاشتراك مع انزيمات اخرى تساعد على تحولات تحدث بين الكربوهيدرات ثلاثية ورباعية وخماسية وسداسية وسباعية الكربون فيما بينها .

٣ ـ طريق الفوسفوكيتوليز

لنعود الان الى الزايللوز خامس الفوسفات وهو لمركب الذي افترقت عنده الطرق في مختلف الاحياء المجهرية. فنجد ان بعض انواع من البكتريا مثل ليوكونوستوك مزنيتر مزنترويدس **Leuconostoc mesenterides** . ان هذا السكر المفسفر منشط يمر في الطريق التالي في هذا النوع من البكتريا ليولد نواتج هي الكحول الاثلي وملح اللاكتيت مع تحرير جزيئة من ثاني اوكسيد الكربون ان هذه البكتريا تتميز بعدم قدرتها على تكوين انزيم فوسفوفركتو كاينيز وانزيم الالدوليز وانزيم ترايوزفوسفيت ايسومريز مما يؤدي بها الى سلوك طريق آخر لاكسدة سكر الرايبلوز خامس الفوسفات . عن هذا الطريق وبمساعدة انزيم الفوسفوكيتوليز يتم تحويل الرايبلوز خامس الفوسفات الى الاستيل فوسفيت والكلسر الدهايد ثالث الفوسفات وكل من هذين المركبين يأخذ طريقا معينا . (كما في الشكل ٥٦) .

فالاول يتفاعل من الاستيل كو اي ليولد الكحول الاثيلي عن طريق الاست الدهايد والثاني يولد اللاكتيت عن طريق الكلسر الدهايد ثالث الفوسفات والبايروفيت في هذه البكتريا وعند مرور سكر الكلوكوز في هذا الطريق تتولد جزيئة واحدة من ATP لذلك فهو اقل كفاءة من الطريق الاول (EMP) اما في بكتريا اللاكتوموناس بايفدس **Lactomonas bifidus** فأنها تحرر مركبي الاستيت واللاكتيت باكسدة سكر الكلوكوز وذلك بعد فسفرته وتحويله الى الفركتوز سادس الفوسفات ثم يحول المركب الاخير الى مركب رباعي الكربون (ارثروز رابع الفوسفات) وآخر ثنائي الكربون (فوسفات الاستيل) والتي تتحول بدورها الى



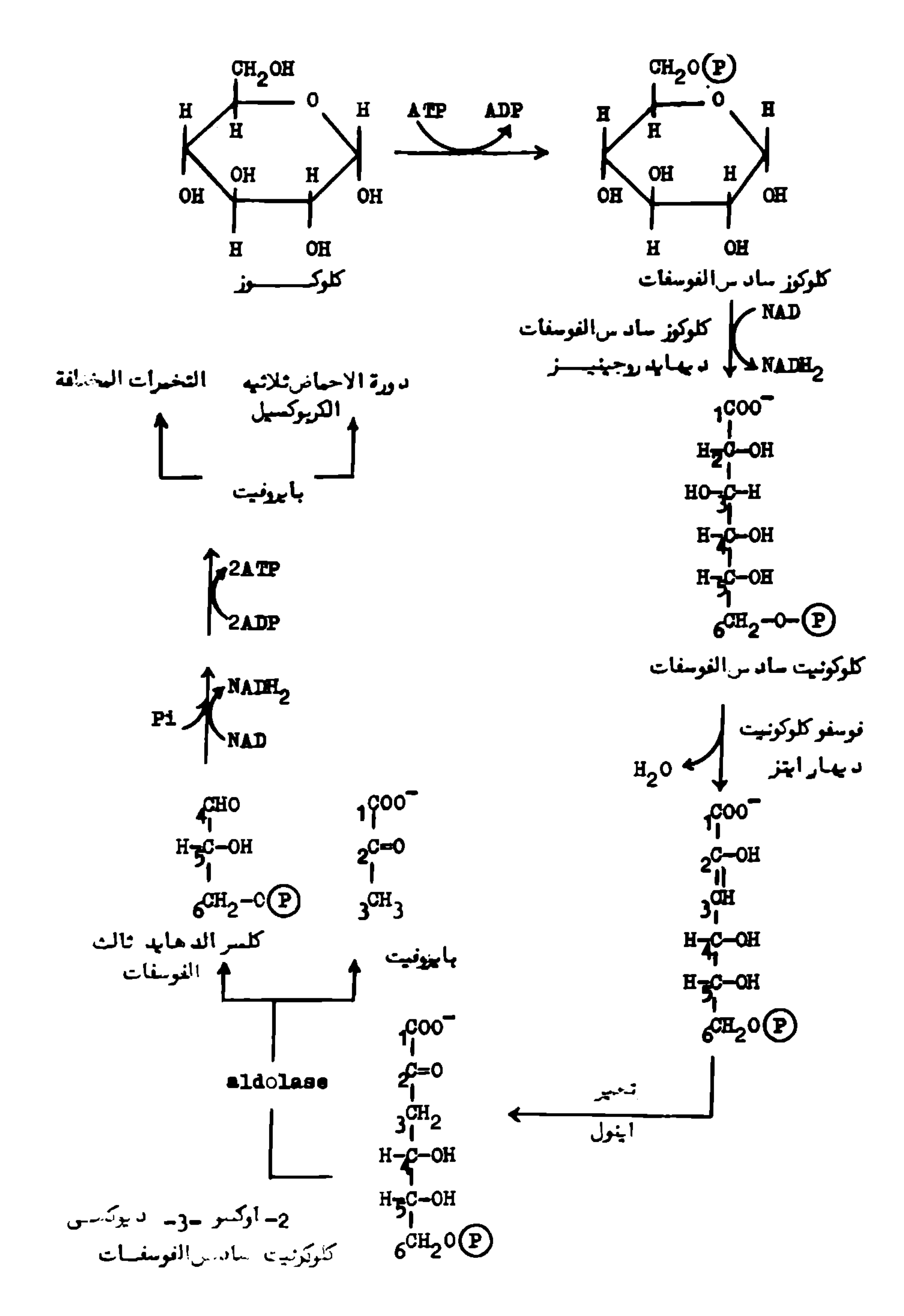
شكل (٥٦) يوضح تخمر الكلوكوز في البكتريا ليوكونوستوك ميزنتريويدس .

الاستيت لفقدان جذر الفوسفات الى ADP . او ان هذه البكتريا قد تهدم الزايللوز خامس الفوسفات الى مركبين اولها ثلاثي الكربون (كلسر الدهايد ثالث الفوسفات) والاخر ثنائي الكربون (فوسفات الاستيل) . عند اكسدة الكلوكوز عن هذا الطريق فأن مقدار الطاقة المتولدة هي خمسة جزيئات من ATP لكل جزيئتين من سكر الكلوكوز . يتضح مما تقدم ان جميع العمليات في هذا الطريق هي ايضا من نوع التخمر حيث ان في جميع العمليات كان مستلم الالكترونات مادة عضوية .

٤ ـ طريق انتنر دودروف

ان هذا الممر لاكسدة الكربوهيدرات تسلكه مجموعة محددة من الاحياء المجهرية معظمها ينتمي لجنس البكتريا سودوموناس **Pseudomonas** حيث وجد اول مرة في **P. Saccharophila** وفي بعض انواع البكتريا السالبة لصبغة غرام . ان اول خطوة في هذا الطريق مشابهة للخطوات الاولى في الطرق الاخرى وهي فسفرة السكر اما العامل المميز لهذا الطريق فهو وجود انزيم من النوع الالدوليز Aldolase الذي تختلف ميكانيكية عمله عن بقية انواع هذه المجموعة من الانزيمات . ان هذا الاختلاف هو ان احد ذرتي الكربون التي تقسم عندها جزيئة السكر السداسي لاتمتلك مجموعة الهيدروكسيل $(OH)^-$ والتي توجد في جميع المركبات التي تعمل عليها انزيمات من النوع الالدوليز (شكل ٥٧) . عند تقسيم جزئية السكر السداسي الى جزيئتين من مركب ثلاثي الكربون (البايروفيت) تكون جزيئة الكربون الاولى (في مجموعة الكربوكسيل) اصلها من الكربون الاولى للسكر السداسي اما الكربون الاولى للجزيئة الثانية من المركب الثلاثي فأصلها من الكربون الرابعة للسكر السداسي .

ان هذا الطريق يولد جزيئة واحدة من ATP لكل جزيئة من الكلوكوز اى بمعنى آخر ان كمية الطاقة تكون واطئة مقارنة بالطريق الاول الذي يتولد فيه سكر ثنائي الفوسفات ان مصير البايروفيت قد يكون دخولها في دورة الاحماض ثلاثية الكربوكسيل او تخمرها الى مختلف النواتج (انظر فصل ٨) . سبق وان ذكرنا ان مصادر الطاقة من الكربوهيدرات عديدة وقد تكون مصادر اخرى غير سكر الكلوكوز وان هذا اخذ كمثال للحصول على الطاقة . هناك طرق عديدة لدخول المركبات الكربوهيدراتية الاخرى الى احد الطرق الاربعة التي سبق ذكرها وتعتمد هذه الطرق على توفر الانزيمات الخاصة بذلك في الكائن المجهري فمثلا السكريات الاحادية الاخرى تدخل عن طريق فسفرتها اولا اما الكربوهيدرات ثلاثية السكر ومتعددة السكريات فأنها تتحلل اولا الى سكريات احادية ثم تدخل الطرق المختلفة السابقة الذكر .



شكل (٥٧) يبين طريق انتنر – دودروف لتخمر الكلوكوز

مركبات النتروجين كمصادر طاقة

ان اكثر المركبات النتروجينية المستخدمة كمصادر للطاقة هي الاحماض الامينية والبيورين والبرمدين وهذه المصادر مهمة بالنسبة لبعض انواع البكتريا اللاهوائية مثل الكلوستريديوم Clostridium والمكورات الصغيرة Micrcoccus ويمكن ان تستعمل من قبل البكتريا الاخرى كالبكتريا الهوائية كمصدر للطاقة اذا كانت هي المصادر الوحيدة للكربون.

تتعرض الاحماض الامينية اولا الى عملية نزع مجموعة الامين Deamination او مجموعة الكربوكسيل Decarboxilation حسب توفر الانزيمات المتخصصة وتوجد اشكال متعددة لعملية ازالة مجموعة الامين فالكائن المجهري يسلك احد هذه الاشكال اعتمادا على نوعه وعلى ظروف التنمية في الاوساط الزرعية ان نواتج هذه العملية قد تدخل دورة الاحماض ثلاثية الكربوكسيل وبما ان هذه الدورة سيأتي الكلام عنها فيما بعد في هذا الفصل لذا فأن ميكانيكية هذه التحولات ستبحث حينئذ. اما عملية ازالة مجموعة الكربوكسيل فتشمل الامينات $(R-CH_2-NH_2)$ والتي معظمها ذات رائحة كريهة وهي الرائحة المعروفة عند التفسخ ان اكثر تفاعلات الاكسدة للاحماض الامينية انتشارا هو تفاعل ستكلاند Stickland الذي تحصل فيه بعض الاحياء المجهرية على الطاقة. تتوفر هذه الطاقة ليس بأكسدة حامض اميني واحد ولكن من عملية اكسدة واختزال تجرى في ان واحد لحامضين امينين احدهم يمثل معطي الالكترونات (وهو الذي يتأكسد) والاخر مستلم الالكترونات وهو الذي يختزل وكما يلي :

$$R-\underset{NH_3^+}{\overset{H}{C}}-COO^- + 2R'-\underset{NH_3^+}{\overset{H}{C}}-COO^- + 2H_2O \longrightarrow$$

$$R-COO^- + CO_2 + 2R'-CH_2-COO^- + 3NH_4^+$$

R = تمثل اى مجموعة كربونية للاحماض الامينية

ان معطى الالكترونات يتأكسد اولا بتمرير الكترونات الى NAD^+ وكما يلي

$$R - \underset{NH_3^+}{\overset{H}{\underset{|}{\overset{|}{C}}}} - COO^- + NAD^+ + H_2O \xrightarrow{\text{ديهايدروجينيز}}$$

$$R - \overset{O}{\overset{\|}{C}} - COO^- + NH_4^+ + NADH + H^+$$

ثانيا ان الحامض الاميني الاخر يستلم الالكترونات هذه من NADH بوجود انزيم متخصص من النوع ريدكتيز وكما يلي

يلاحظ من هذين التفاعلين ان الشيء المشترك بينهما هو NADH لذلك يمكن ان يسبق التفاعل الثاني الاول او يحدث معه في وقت واحد او بعده . يحدث تفاعل ستكلاند بصورة اساسية في الجنس Clostridium ولو ان البعض يعتقد بحصوله في احياء مجهرية اخرى .

التنفس الهوائي

رأينا مما تقدم ان الاحياء المجهرية العضوية التغذية يمكنها الحصول على الطاقة من عمليات اكسدة واختزال المركبات العضوية وذلك بسلوكها احد الطرق او الممرات الاربعة الرئيسية السابقة الذكر . فيما يلي سنتحدث عن كيفية الحصول على الطاقة في هذه المجموعة من الاحياء عن طريق اكسدة المركبات العضوية كليا الى ثاني اوكسيد الكربون وماء وذلك بواسطة الاوكسجين الجزيئي . يشترك في هذه العمليات العديد من الانزيمات المتخصصة ومركبات اخرى تدعي بحوامل الالكترونات لاكسدة المركبات العضوية . تنقل الالكترونات بواسطة هذه الحوامل بطريقة منتظمة من الاوطأ جهداً الى الاعلى ثم الى الاوكسجين . لقد تبين ايضاً فيما تقدم من عمليات اكسدة للمركبات العضوية ان تلك العمليات كانت من نوع التخمر حيث ان الالكترونات كانت تنقل من مركب عضوي لاخر وان احد اهم المحصلات النهائية كانت البايروفيت في العديد من انواع التخمر هذه . في هذا الجزء من الفصل سنرى كيف تحصل العديد من الاحياء المجهرية على طاقة لتخليق ATP من اكسدة مجموعة الاستيل الموجودة في البايروفيت وذلك عن طريق دورة تدعى بدورة الاحماض ثلاثية الكربوكسيل (Tricarboxylic Acid Cycle (TCA) والتي تدعى ايضا بدورة كربس (Krebs Cycle) او بدورة حامض الستريك . (Citric Acid Cycle) . ان دورة الاحماض ثلاثية الكربوكسيل تمثل طريقة الاكسدة النهائية للعديد من المركبات العضوية والحصول على طاقة عالية تبلغ حوالي ــ ٦٨٦ كيلو سعرة لكل جزئية من سكر الكلوكوز التي تؤكسد كليا ثاني اوكسيد الكربون وماء عن طريق هذه الدورة والتي تكون بضمنها السبعة واربعون سعرة التي تحررت الى حيث مرحلة البايروفيت كما وان هذه الدورة تهيء للاحياء المجهرية العديد من الوحدات البنائية . التي سبق ذكرها في الفصل الخامس .

تدخل البايروفيت هذه الدورة وذلك بتأكسدها اولا الى الاستيل كواى وبمساعدة نظام معين من الانزيمات يدعي نظام الديهايدروجينيز وكما مبين في الشكل (٥٨) ان اول هذه التفاعلات هو اتحاد البايروفيت مع العامل المرافق Cofactor ثايمين بايروفوسفيت (Thiamine Pyrophosphate (TPP) وكالاتي :

ثايمين بايروفوسفيت

بايروفيت

تايمين بايروفوسفيت ـ بايروفيت

١ ـ ٢ ـ الفاهيدروكسي اثيل ثايمين بايروفوسفيت

(-)-2-α- Hydroxyethyl Thiamine Pyrophosphate

شكل (٥٨) الخطوات الاولى لدخول البايروفيت في دورة الاحماض ثلاثية الكربوكسيل

تجري بعد هذا الارتباط للبايروفيت مع (TPP) عملية نزع لثاني اوكسيد الكربون من البايروفيت وبمساعدة انزيم بايروفيت ديهايدروجينيز . بعد هذا التفاعل تجري عملية نقل لمجموعة الهيدروكسيل اثيل الى عامل مرافق آخر هو حامض الليبويك (Lipoic Acid) وخلال هذه العملية تنتج مجموعة الاستيل من اكسدة مجموعة الهيدروكسي اثيل عند عملية اتصالها مع جزيئة حامض الليبويك وكما يلي :

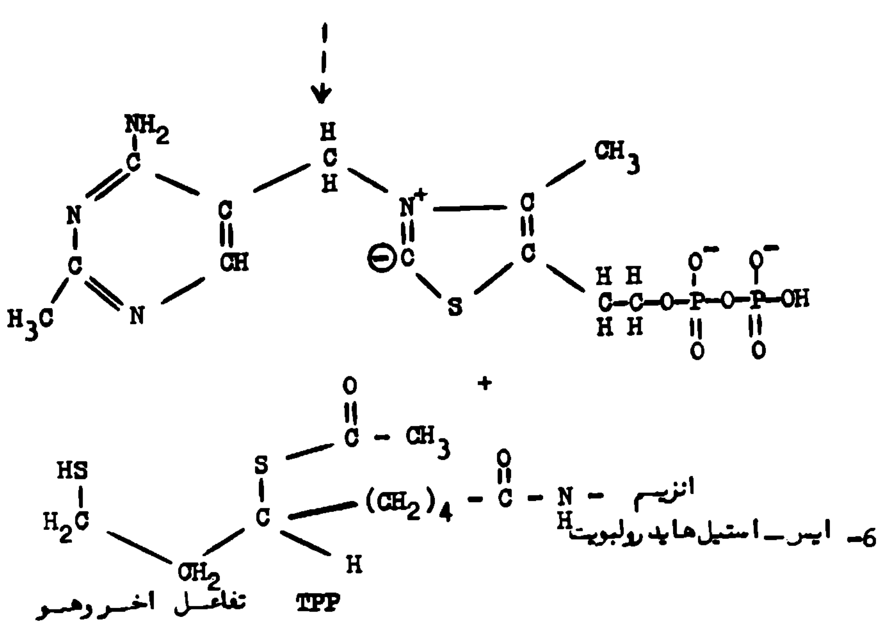
NH2 C H C H CH3 N N+ C C C OH HO C C S C H H H3C N C H C-C-O-P-O-P-OH H3C H H O O O- O-

S S O H2C C (CH2)4 -C-N- enzyme C H H H2

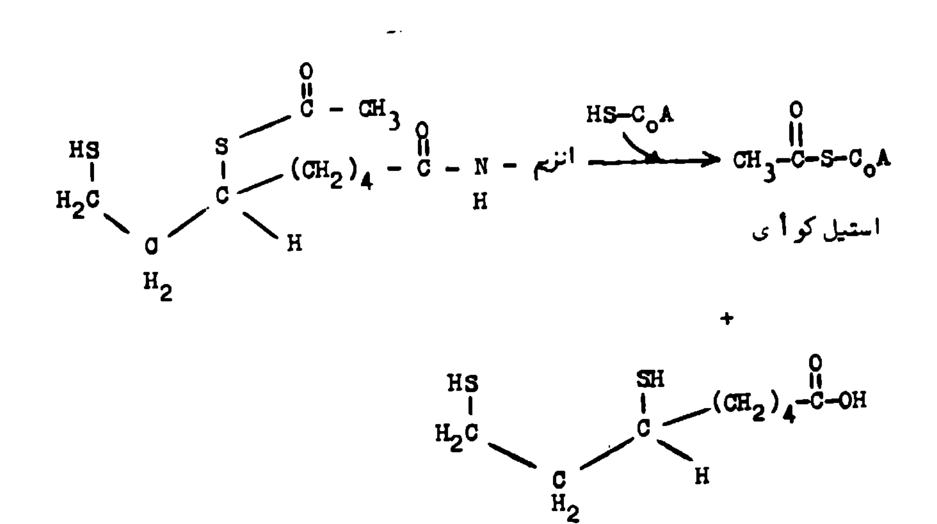
NH2 H C CH3 C H N C N+ C C C CH C C S C-C-O-P-O-P-OH CH3 N HO C H H O O O- O- H3C

S S O H2C C (CH2)4 -C-N- انزيم C H H H2

تابع شكل ٥٨



ويلي هذه المجموعة من التفاعلات والتي يستعاد فيها TPP تفاعل اخر وهو نقل مجموعة الاسل (Acyl) من مجموعة الثايول (Thiol) في المركب ٦ ـ ايس ـ استيل هيدرولبويت الى مجموعة الثايول في الاستيل كواي وكما يلي :



ان مركب الداي هايدروليبويت يتأكسد بمساعدة انزيم ديهايدروجينيز متخصص الى حامض الليبويك . تجري عملية الاكسدة هذه باختزال العامل المرافق NAD^+ .

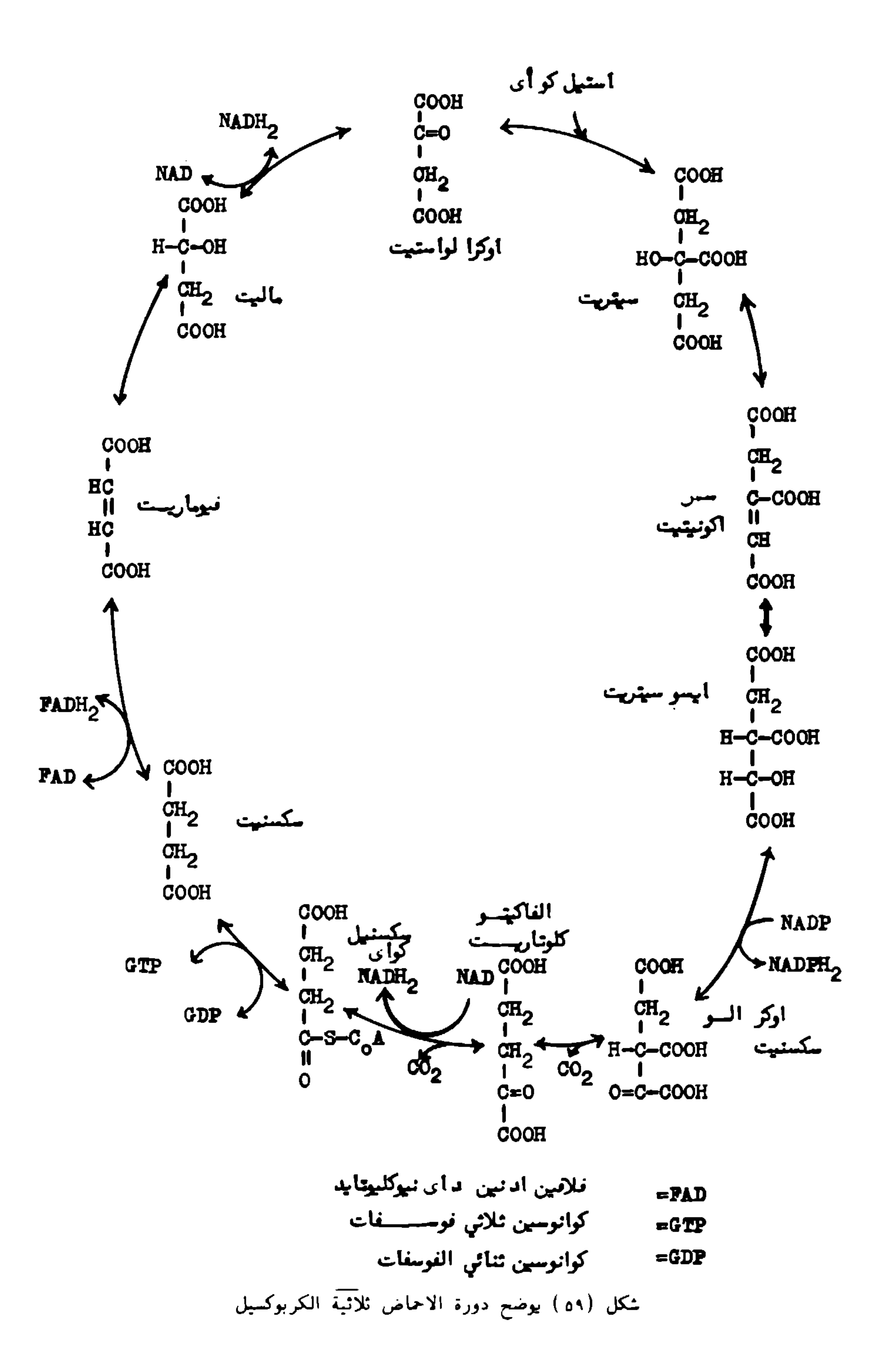
يتبين مماتقدم ان البايروفيت تدخل دورة الاحماض ثلاثية الكربوكسيل بعد تحولها الى الاستيل كواى . ان اول خطوة في هذه الدورة هي تفاعل استيل كواي مع الاوكزالو استيت لتكوين حامض الستريك (شكل ٥٩) خلال هذه الدورة تتحول ذرتا الكربون الموجودتان في الاستيل كواي الى ثاني اوكسيد الكربون وان جميع التفاعلات في هذه الدورة عكسية فيما عدا تفاعلا واحدا هو تأكسد الفاكيتوكلوتاريت الى سكسنيل كوأي . كما وان المركبات العضوية الوسط في الدورة هذه يكون عملها شبيه بالعامل المساعد حيث انها لاتتكون بكميات كبيرة وان جميعها يعاد تكوينها خلال الدورة والمركب الاكثر استهلاكا هو مجموعة الاستيل التي تولدت في البايروفيت اصلا . ان ايونات الهيدروجين وعددها اربعة ازواج المتحررة خلال الدورة تمر عبر سلسلة من الحوامل وتنتهي في جزيئة الاوكسجين لتحولها الى ماء . بمعنى آخر ان ايونات الهيدروجين والالكترونات المرافقة لها تنتقل عبر وسائط النقل هذه وفي آخر مرحلة من تنقلها تتفاعل ايونات الهيدروجين مع الاوكسجين وبمساعدة انزيم يدعى سايتوكروم اوكسديزان انتقال الالكترونات هذه من حاملها الاول $NADH_2$ الى ان تصل الى جزيئة الاوكسجين يكون على مراحل ثلاثة والتي عندها تتحرر كمية من الطاقة كافية لتخليق ATP من ADP . سبق وان اشرنا عند حديثنا عن تحرر الطاقة من تفاعلات الاكسدة والاختزال المقترنة ان قيمة جهد الاختزال القياسي (E_o') لتفاعلات الاكسدة والاختزال المقترنة يجب ان يكون حوالي ١٧٠ ملليفولت او أكثر لكي يكون التغير في كمية الطاقة كافيا (٧,٣ كيلو سعرة) لتخليق ATP من ADP حسب المعادلة التالية :

$$\Delta G^{o'} = -NF\text{-}\Delta E_o$$

دلتا جيْ = − عدد الالكترونات × فاراداي × دلتا قيمة جهد الاختزال القياسي

ان انتقال الالكترونات من حامل الى اخر ومن مرحلة الى اخرى ليس هدفه توصيل الالكترونات الى الاوكسجين ولكن في هذه العملية تخزن كمية من الطاقة التي كانت موجودة في الاستيل كوأي والتي اصلها ماتبقى من الطاقة في جزيئة الكلوكوز بعد ان تحرر القليل منها في عملية التخمر وحتى الحصول على البايروفيت .

توجد حوامل الالكترونات في الخلية الحقيقية النواة في المايتوكوندريا والتي تحتوي ايضا على الانزيمات التي تساعد في تفاعلات دورة الاحماض ثلاثية



FAD= فلافين ادنين داى نيوكليوتايد

GTP= كوانوسين ثلاثي فوســـــفات

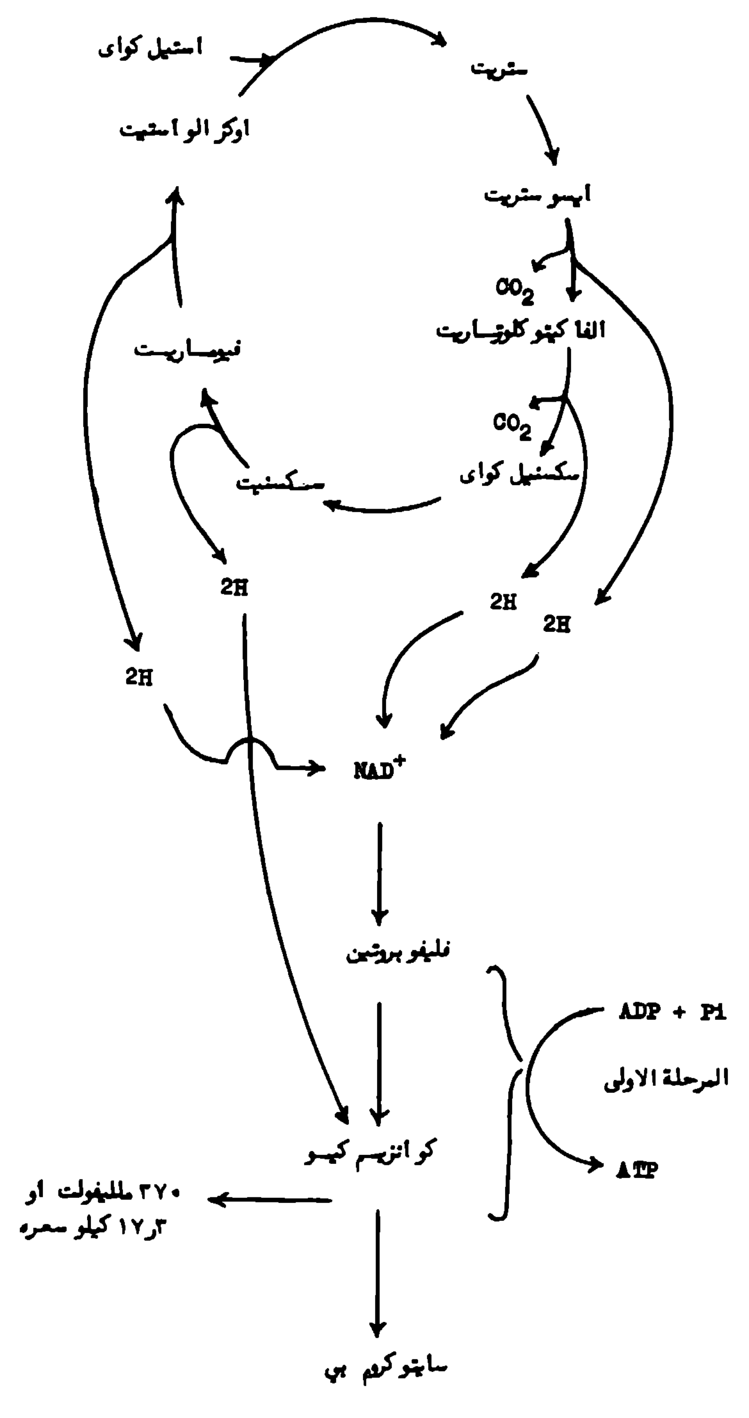
GDP= كوانوسين ثنائي الفوسفات

شكل (٥٩) يوضح دورة الاحماض ثلاثية الكربوكسيل

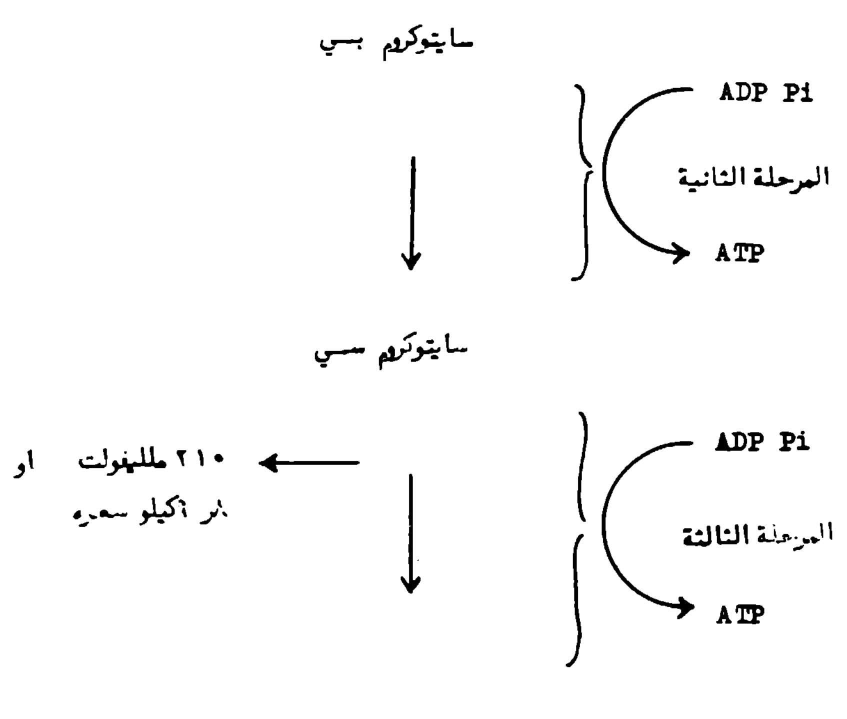
الكربوكسيل . اما في الخلية البدائية النواة فتوجد الانزيمات وحوامل الالكترونات في الغشاء السايتوبلازمي . ان التسلسل المرحلي الذي تنتقل عليه الالكترونات من حامل الى اخر ومن مرحلة الى اخرى في حقيقية النواة مبين في الشكل (٦٠) اما في بدائية النواة فيوجد اختلاف في طبيعة حوامل الالكترونات عن حقيقية النواة لكن الاسس متشابهة ان حوامل الالكترونات الموجودة في المجموعة الواحدة لاتختلف فيما بينها بالنسبة لفرق الجهد القياسي لذلك فقط عند انتقال الالكترونات بين مرحلة واخرى وبين المرحلة الثالثة والاوكسجين يتولد فرق جهد كافي لتوليد طاقة كافية لتخليق اواصر عالية الطاقة . فقد وجد عند انتقال الالكترونات في حقيقية النواة بين المرحلة الاولى والثانية يكون فرق الجهد القياسي (E_0') ٣٧٠ ملليفولت وهو يكافىء ١٧,٣ كيلو سعره (مقدار الفرق النسبي في الطاقة الحرة يبلغ ١٧,٣ كيلو سعره) اما عند انتقال الالكترونات بين المرحلة الثانية والثالثة فقيمة E_0' تكون ٢١٠ ملليفولت وهو تكافىء ٩,٨ كيلو سعرة . عند انتقال الالكترونات المرحلة الثالثة والاوكسجين تبلغ قيمة E_0' ٥٦٠ ملليفولت ومقدار الطاقة ٥ كيلو سعره . تبين من الشكل السابق ان ATP تتخلق من ADP بثلاث مراحل عند انتقال زوج من الالكترونات من $NADH_2$ الى الاوكسجين . ثم حساب هذا العدد من حساب نسبة عدد جزيئات الفوسفات غير العضوية التي تتحول الى جزيئات عضوية عند استهلاك غرام من ذرة الاوكسجين . تدعى هذه النسبة بنسبة الفوسفور الى الاوكسجين (بي : او) أو (P:O) . من الشكل السابق ايضا يتبين لنا ان السكسنيت تمرر الكتروناتها بعد المرحلة الاولى اي ان هذا الزوج من الالكترونات عند انتقاله الى الاوكسجين يمر بمرحلتين فقط هي الثانية والثالثة اي بمعني اخر ان بي : او (P: O) تساوي ٢ . اذا علمنا ايضا ان بي : او هي ٣ وذلك عند تحول البايروفيت الى استيل كوأي يكون عدد جزيئات ATP التي تتخلق من ADP عند اكسدة البايروفيت بصورة كاملة هو ١٤ جزيئة ثلاثة منها عند مرحلة كل من البايروفيت ، الاستيوستريت ، الالفاكيتو كلوتاريت والماليت ، واثنتان من اكسدة السكسنيت . تتكون ايضا اصرة اضافية عالية الطاقة ولكن ليس في ATP بل في GTP وذلك عند تحول سكسنيل كوأي الى سكسنيت وكما يلي :

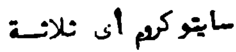
Succinyl – CoA + Pi + GUP——— Succinate + GTP + CoA – SH

اذا يكون مجموع الاواصر عالية الطاقة هو ١٥ اصرة واذا كانت كل اصرة تولد ٧,٥ كيلو سعره عند تحللها يكون مجموع السعرات الكلية المخزونة عند اكسدة البايروفيت الى الاوكسجين هو حوالي ١١٢,٥ كيلو سعره . واذا علمنا ان عمليات الاكسدة والاختزال للبايروفيت لحين تأكسدها النهائي يحرر طاقة مقدارها ٢٨٠ كيلو سعره تكون كفاءة عملية اكسدة البايروفيت الكلية هي ٤٠ ٪ .



شكل (٦٠) يبين انتقال الالكترونات خلال دورة الاحماض الثلاثية الكربوكسيل في حقيقية النواة





٥٦٠ ملليفولت او
٥ ر٢٤ كيلو سعره

$$2H^+ + \frac{1}{2}O_2 \longrightarrow H_2O$$

تابع شكل (٦٠)

التنفس اللاهوائي

ان التنفس اللاهوائي هو عمليات اكسدة يكون المستلم النهائي للالكترونات فيها مركبا لاعضويا غير الاوكسجين . ان الاحياء المجهرية التي تنمو تحت ظروف هوائية غالبا تستطيع النمو تحت ظروف لاهوائية ايضا مستخدمة بذلك جذر النترات كمستلم نهائي للالكترونات كما في الميكروكوكس دينترفيكانس **Micrococcus denitrificans** او جذر الكبريتات كما في ديسلفوفبريو Desulfovibrio او حتى ثاني اوكسيد الكربون كما في ميثانوبكتريم اوميليانسكي **Methanobacterium Omelianskii** وكلوستريديوم استيكم Clostridium **aceticum** ففي الاحياء المجهرية العضوية التغذية يتأكسد المركب العضوي بفقدان الالكترونات التي تمرر الى مستلم الالكترونات ويتم خلال هذه العملية تحرر طاقة وتخزينها ، اما المركب العضوي الذي تأكسد فتختلف معاملته حسب نوع المادة العضوية التي تأكسدت بالاصل ان نواتج التنفس اللاهوائي سواء اكانت في عضوية التغذية ام في ذاتيتها فهي مختلفة ايضا ، فاذا كانت النترات هي المستلم النهائي للالكترونات فأن نواتج اختزالها تكون النيتروز او الامونيا ، اما في حالة الكبريتات فيكون كبريتيد الهيدروجين كناتج اختزال هذا الجذر ، اما في حالة ثاني اوكسيد الكربون كمستلم نهائي للالكترونات فأن ناتج اختزال هذا الغاز هو غاز الميثان .

ازداد اهتمام العالم في الاونة الاخيرة بالبروتين في وحيدة الخلية ولهذا الغرض فأن معظم التفاعلات التي تحصل فيها الاحياء على طاقة من مركبات عضوية وحيدة الكربون والتي لازال معظمها غامض لحد الان اصبحت مركزا للابحاث . من هذه المركبات هو غاز المثيان والكحول المثيلي ومثيل امين والفورميت وان معظمها يؤكسد الى ثاني اوكسيد الكربون وان الالكترونات المتحررة تمرر في سلسلة من التفاعلات لتخليق ATP . فمثلا تتم اكسدة غاز المثيان بواسطة البكتريا ليس الى الكحول المثيلي مباشرة ولكن الطريقة الاكثر احتمالا لاكسدة هذا الغاز والحصول على الطاقة هو كما يلي :

$$CH_4 \longrightarrow CH_3-O-CH_3 \longrightarrow CH_3-O-CH_2OH$$

غاز الميثان — داى مثيل ايثر — ميثوكسيمثيانول

$$CO_2 + H_2 \longleftarrow H\text{-}COOH \longleftarrow HCHO \longleftarrow CH_3OH \longleftarrow CH_3\text{-}O\text{-}CHO$$

حامض الفورميك — فورمالدهايد — ميثانول — مثيل فورميت

ان اختزال الفورميت (حامض الفورميك) الى ثاني اوكسيد الكربون وماء يتم بمساعدة انزيم متخصص من النوع ديهايدروجينيز وان هذا التفاعل يحرر الالكترونات التي يتم توصيلها الى NAD لتكوين NADH .

تحصيل الطاقة من قبل الاحياء المجهرية الذاتية التغذية

ان الاحياء المجهرية الذاتية التغذية Chemolitotrophs تحصل على الطاقة من اكسدة مركبات لاعضوية وذلك بتخليق ATP من هذه العمليات ان البعض من هذه الاحياء يكون مضطرا للحصول على الطاقة بهذه الطريقة مثل بكتريا الكبريت والبعض الآخر يكون اختياريا مثل بكتريا الهيدروجين . لقد وجد ان طريقة التغذية هذه فيها نوع من التخصص حيث ان هذه الاحياء تتخصص بالنسبة لنوع المركب اللاعضوي الذي تؤكسده في الحصول على الطاقة . ان البعض من هذه الاحياء هوائية المعيشة تنقل الالكترونات المتحررة في عمليات الاكسدة الى الاوكسجين بعد مرورها في سلسلة السايتوكروم وكمثال على هذا النوع من الاكسدة كما يحصل في اكسدة النتروز الى النترات الذي تقوم به بكتريا الجنس نيتروبكتر Nitrobacter

$$NO_2^- + H_2O \longrightarrow NO_3^- + 2H^+ + 2e^-$$

$$2e^- + \text{Cytochrome C} \longrightarrow \text{Cytochrom A} \xrightarrow{ADP \rightarrow ATP} \text{Cytochrome } A_1$$

$$\text{Cytochrome } A_1 + \tfrac{1}{2}O + 2H^+ \longrightarrow H_2O$$

ان مقدار E_0 لهذا التفاعل هو + ٠,٥٤ فولت ، ويحصل هذا الجنس على الكربون من ثاني اوكسيد الكربون وهذا الغاز على درجة عالية من الاكسدة حيث يجب اختزاله كي تستفيد منه الخلية لبناء تراكيبها الداخلية والتي تكون على درجة اقل من الاختزال . ان اختزال ثاني اوكسيد الكربون يتم عن طريق $NADPH_2$ وبما ان + ٠,٥٤ فولت هي غير كافية لتحرير $NADPH_2$ من $NADP^+$ فأن الاعتقاد السائد هو ان هذه البكتريا تستخدم تفاعلات معتمدة على ATP معكوس تفاعل الفسفرة المؤكسدة Oxidative Phosphorelation في اختزال $NADP^+$ اما في الجنس هيدروجينو موناس Hydrogenomonas وهو من البكتريا الهوائية ايضا فأن الالكترونات المتحررة من الهيدروجين تستلم من قبل NAD^+ اما مباشرة وبمساعدة انزيم هيدروجين ديهايدروجينيز وكالاتي :

$$H_2 + NAD^+ \longrightarrow NADH + H^+$$

او بصورة غير مباشرة بعد تحررها من الهيدروجين وبمساعدة انزيم هايدروجينيز كالاتي :

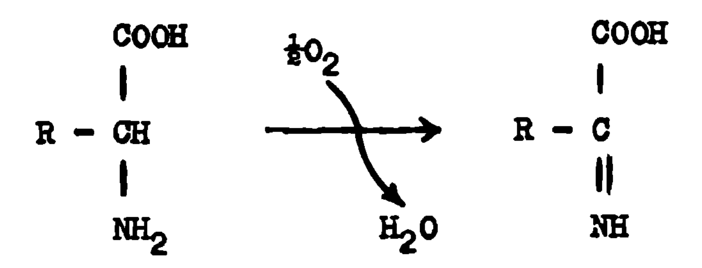
$$H_2 \longrightarrow 2H^+ + 2e^-$$

حيث تصل هذه الالكترونات في النهاية الى NAD^+ . وبعد ان يختزل NAD^+ الى NADH في كلتي الحالتين تمرر الالكترونات الى $NADP^+$ والاخيرة تقوم باختزال CO_2 الذي يتم تحويله الى تراكيب الخلية المختلفة وكما تم شرحه في الفصل السابق .

من الاحياء الذاتية التغذية والهوائية الاخرى بكتريا بجياتوا Beggiatoa التي تستخدم كبريتيد الهيدروجين كمعطي للالكترونات محررة بذلك الماء والكبريت وكذلك بكتريا نيتروسومونس Nitrosomonas التي تستخدم ايون الامونيوم لعمليات الاكسدة محولة هذا الجذر الى املاح النيترايت **Nitrite** كذلك بكتريا ثايوباسيلس فيرواوكسيدانز **Thiobacillus ferro-oxidans** التي تؤكسد ايون الحديدوز محولة اياه الى ايون الحديديك وبكتريا ثايوباسيلس ثايواوكسيدانز **Thiobacillus thiooxidans** التي تستخدم مركبات الكبريت اللاعضوية مثل كبريتات الثايو Thiosulfate مؤكسدة اياها الى الكبريتات اما بكتريا ثايوباسيلس دينتريفيكانس **Thiobacillus denitrificans** فأنها تمرر الالكترونات المتحررة من الكبريت ومركبات الكبريت اللاعضوية الى املاح النترات مولدة بذلك الكبريتات والنتروجين .

الاحماض الامينية :

سبق وان ذكرنا ان المركبات العضوية النتروجينية قد تستخدم كمصادر للطاقة بالنسبة للاحياء المجهرية . فالاحماض الامينية تستخدم من قبل البكتريا الهوائية المضطرة والاختيارية كمصادر وحيدة للطاقة والنتروجين والكربون . ان هذه الاحماض الامينية تتأكسد اولا وبمساعدة الانزيمات المؤكسدة وذلك بازالة الالكترونات بوجود الاوكسجين وبهذه العملية يتحول الحامض الامين Amino Acid الى حامض اميني Imino Acid وذلك كالاتي : ــ



وبعد ذلك تتم عملية ازالة جذر الامونيوم بالتحلل المائي للحامض الاميني

$$R-\underset{\underset{NH}{\|}}{\overset{\overset{COOH}{|}}{C}} \xrightarrow{H_2O+H^+} R-\underset{\underset{O}{\|}}{\overset{\overset{COOH}{|}}{C}} + NH_3$$

Imino Acid حامض اميني　　　　Kito Acid حامض الكيتو

واحيانا تتم عملية اكسدة الاحماض الامينية ليس بالطريقة الهوائية بل بطريقة لاهوائية وذلك باقتران حامضين امينيين احدهما يتأكسد الى حامض الكيتو (معطي للالكترونات) والاخر يختزل (مستلم للالكترونات) وهذا النوع من التفاعل يسمى تفاعل ستكلاند الذي سبقت الاشارة اليه .

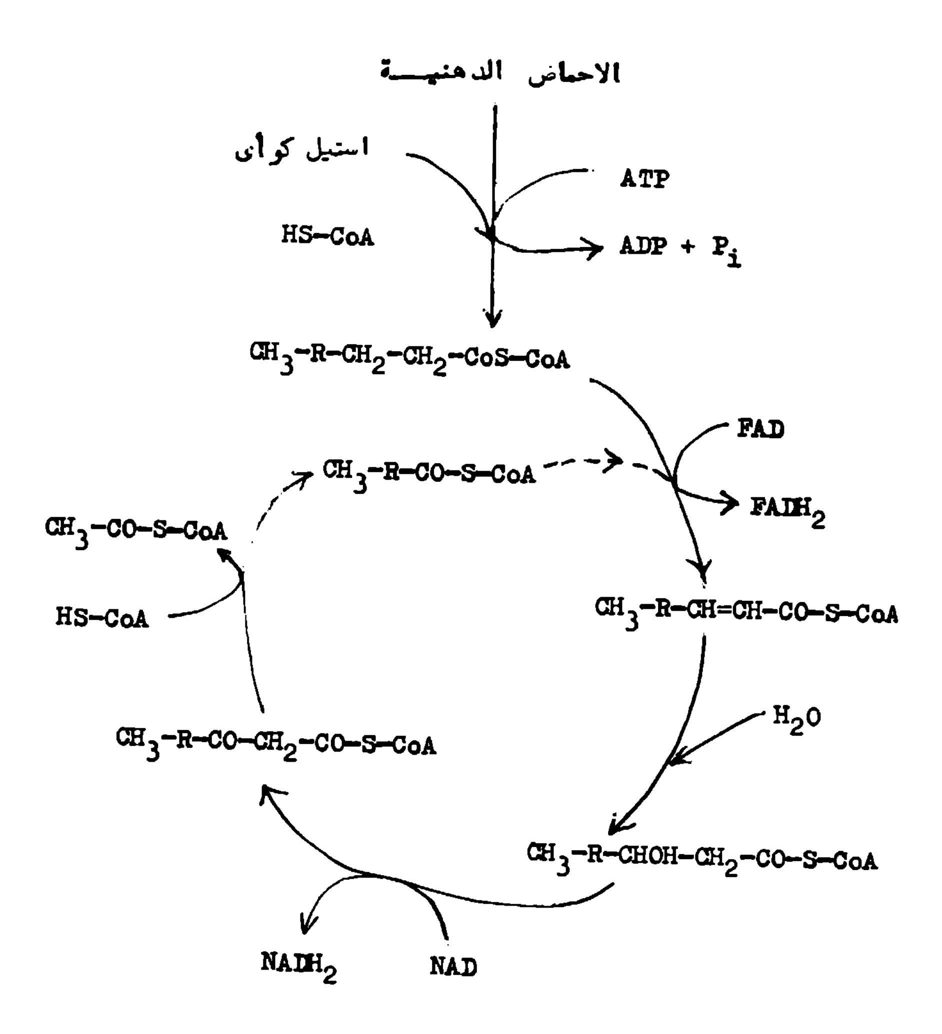
البيورين والبريميدين :

ان بعض انواع الاحياء المجهرية كالمايكوبكتريا لها القدرة للحصول على طاقة بادخال بعض مكونات الاحماض النووية الى دورات تحرر الطاقة كدورة الاحماض الثلاثية الكربوكسيل وذلك بتحليل الاحماض النووية اولا الى النيوكليوتايد والنيوكليوسايد ثم الى القواعد النووية فالبعض من هذه القواعد يمكن ان تدخل دورة الاحماض الثلاثية الكربوكسيل في معظم الاحيان كما في البكتريا اللا هوائية ، يحصل تخمر للبيورين والبريميدين فمثلا البكتريا ميكروكوكس ايروجينيز **Micrococcus aerogenes** تخمر اليوراسيل والسايتوسين والثايمين مكونة بذلك نواتج مختلفة اهمها اللاكتيت والاسيتيت وثاني اوكسيد الكربون والهيدروجين والامونيا .

استرات الكليسرول والاحماض الدهنية

تعمل هذه المركبات كمصادر طاقة للطاقة لبعض الاحياء المجهرية وذلك بتحلل الاسترات اولا الى الكليسرول والاحماض الدهنية وذلك بواسطة الانزيمات المحللة للدهنيات سواء اكان ذلك داخل الخلية ام خارجها . فالكليسرول ينشط اولا بفسفرته ثم يدخل طريق EMP اما الاحماض الدهنية فتدخل عملية الاكسدة وهذه تكون على ثلاثة اشكال وهي الالفا ، والبيتا ، والاوميكا فالشكل الفا يحصل في الكربون الثانية من السلسلة وذلك بتحويله الى حامض دهني من النوع الفا

هيدروكسي تلي ذلك عملية ازالة مجموعة الكربوكسيل (Decarboxylation) مما ينتج عن حامض دهني يمتلك عددا اقل من ذرات الكربون . اما الشكل بيتا فهو اكثر الاشكال انتشارا ويمكن تلخيص العملية كما في الشكل (٦١) .



شكل (٦١) يوضح اكسدة الاحماض الدهنية بالشكل بيتا .

ان اول خطوة في هذا الطريق هو تنشيط الحامض الدهني بواسطة تحويله الى استر مع كواي وذلك بتفاعله مع الاستيل كواي وكالاتي :

$$\mathrm{R\text{-}COOH + CoA\text{-}SH + ATP \rightleftharpoons R\text{-}\overset{\overset{\displaystyle O}{\|}}{C}\text{-}S\text{-}CoA + AMP + PPi}$$

بعد ذلك تجري عملية اكسدة لهذا الحامض بنقل الهيدروجينات الى مجموعه الفلافين ادنين ثنائي النيولكيوتايد لانزيم الديهايد روجينيز المختص وكالاتي :

$$\mathrm{R{-}CH_2{-}CH_2{-}\overset{\overset{\displaystyle O}{\|}}{C}{-}S{-}C_oA \xrightarrow{FAD \;\rightarrow\; FADH_2} R{-}CH{=}CH{-}\overset{\overset{\displaystyle O}{\|}}{C}{-}S{-}C_oA}$$

يضاف الى الحامض الدهني غير المشبع جزيئة ماء بمساعدة انزيم متخصص من النوع الهايدراتيز (Hydratase) مكونا بذلك مشتق بيتا هيدروكسي اسيل لذلك الحامض وكما يلي :

$$\mathrm{R{-}CH{=}CH{-}\overset{\overset{\displaystyle O}{\|}}{C}{-}S{-}C_oA + H_2O \rightleftharpoons R{-}\underset{\underset{\displaystyle OH}{|}}{CH}{-}CH_2{-}\overset{\overset{\displaystyle O}{\|}}{C}{-}S{-}C_oA}$$

بعد ذلك يؤكسد هذا المشتق بواسطة انزيم يمتلك NAD او NADP لينتج استر هو استر البيتا كيتواسيل للحامض الدهني المعين كالاتي :

$$\mathrm{R{-}\underset{\underset{\displaystyle OH}{|}}{CH}{-}CH_2{-}\overset{\overset{\displaystyle O}{\|}}{C}{-}S{-}C\ A \xrightarrow[NAD \;\rightarrow\; NADH_2]{} R{-}\underset{\underset{\displaystyle O}{\|}}{C}{-}CH_2{-}\overset{\overset{\displaystyle O}{\|}}{C}{-}S{-}C_oA}$$

اما الخطوة الاخيرة في عملية الاكسدة هذه هي في مجموعة الكيتواسيل حيث تكون مجموعة الاستيل كواي باتحادها مع كواي وكالاتي :

$$R-\underset{\underset{O}{\|}}{C}-CH_2-\overset{\overset{O}{\|}}{C}-S-C_oA + \underset{\text{كوأى}}{C_oA-SH} \rightleftharpoons R-\overset{\overset{O}{\|}}{C}-S-C_oA + \underset{\text{استيل كوأى}}{CH_3-\overset{\overset{O}{\|}}{C}-S-C_oA}$$

اما الحامض الدهني المعين والذي جرت عتيه عمليات الاكسدة هذه فيصبح اقل عددا في الكربون بذرتين .

اما الشكل الثالث (اوميكا) ففيه يتم تحويل الحامض الدهني الى حامض هيدروكسي ثم يؤكسد الى حامض ثنائي الكربوكسيل . اما ميكانيكية هذا التفاعل فهي غير واضحة لحد الان .

الفصل الرابع

تثبيت النتروجين
NITROGEN FIXATION

تأتي اهمية عنصر النتروجين لدخوله في تركيب البروتين والاحماض النووية في الخلية الحية ان وجود النتروجين بشكل غاز في الهواء يجعله عديم الفائدة مالم يتحد مع الهيدروجين والاوكسجين . ان عملية الاتحاد هذه يمكن حصولها بعد تحويل النتروجين الى شكل قابل للدخول في تفاعلات الايض التي تعتمد عليها جميع اشكال الحياة . ان تحول النتروجين الى الشكل الذي يؤهله للدخول في الفعاليات الحيوية يمكن ان يحصل بطريقة حياتية بواسطة الاحياء المجهرية بعملية تدعى تثبيت النتروجين ، ويمكن تعريفها بأنها عملية اختزال نتروجين الجوالى امونيا بمساعدة الإنزيم المسمى بالنتروجنيز Nitrogenase . ان هذه العملية تتطلب بالاضافة الى الانزيم توفر مصدر للطاقة (ATP) وايون موجب ثنائي التكافؤ مثل ايون المغنيسيوم Mg^{++} او ايون المنغنيز Mn^{++} او غيرهما كما وتتطلب وجود عامل اختزال **Reductant** يمنح الالكترونات ومستلم الالكترونات الذي يختزل . يوجد نمطان من الاحياء المجهرية التي لها القدرة على توفير ماتتطلبه هذه العملية ، النمط هو الاحياء المجهرية التي تعيش بصورة تكافلية **Simbiotically** مع النباتات البقولية **Leguminous** وتنتمي للجنس رايزوبيوم **Rhizobium** او غير البقولية . والنمط الثاني هو الاحياء المجهرية التي تعيش بصورة حرة مثل الطحالب الزرقاء المخضرة وبعض البكتريا الهوائية التي تنتمي للجنس آزوتوباكتر Azotobacter والبكتريا اللاهوائية غير المضطرة مثل النوع كلبزيلا ايروجينيز **Klebsiella aerogenes** وهذه تقوم بتثبيت النتروجين فقط عند نموها تحت ظروف لاهوائية بحته ، والبكتريا اللاهوائية المضطرة مثل كلوستريديوم باستيور يانم **Clostridium pasteurianum** . ان هذه الاحياء جميعها بدائية النواة ولا يعرف عن اى كائن حي حقيقي النواة له القدرة على تثبيت النتروجين .

ان عملية تثبيت النتروجين لاتحصل بطريقة حياتية فقط بل يمكن حصولها بطريقة صناعية وذلك بتسيل الهواء وتحويله الى اسمدة نتروجينية وتقدر كمية النتروجين الجوي المثبت حياتيا وصناعيا بما يقارب (٢٠٠ × ١٠^٦ طن سنويا) ٨٥٪ منها تثبت بالطرق الحياتية . ان تثبيت النتروجين وتحويله الى مركبات تدخل في تركيب البروتين النباتي اما بصورة مباشرة او غير مباشرة هي عملية ذات فائدة اقتصادية كبرى ليست للنباتات فقط بل لجميع الاحياء على الكرة الارضية حيث تشكل اهم مصدر للنتروجين لها ، كما وان التثبيت بالطرق الحياتية هو اكثر اهمية للنباتات من التسميد بالاسمدة النتروجينية المصنعة .

لما كانت عملية تثبيت النتروجين حياتيا او صناعيا تستهلك كمية كبيرة من النتروجين الجوي (٣,٨ × ١٠^١٥ طن سنويا) اضافة الى كميات اخرى مساوية لها تقريبا تستهلك عن طريق الترسيب في البحر وفي القشرة الارضية على شكل املاح النترات والنتروز والامونيوم ، فكيف يتم تعويض النتروجين الجوي المستهلك هذا ؟

ان التعويض يحصل بواسطة طريقتين رئيسيتين اولها عملية معاكسة للتثبيت Denitrification والتي يتحول فيها النتروجين العضوي الى امونيا وهذه اما تتطاير في الجو او تتأكسد الى نترات . ان النتروجين الموجود في النترات يختزل بواسطة احياء مجهرية او غيرها مع تحرير النتروجين الجزيئي واوكسيد النتروز (N_2O) اللذان يطرحان للجو .

ان عملية عكس التثبيت تعتمد على ظروف بيئية كثيرة اهمها طبيعة المادة العضوية والرقم الهيدروجيني والحرارة والرطوبة في التربة وهذه جميعها تؤثر على توفر الاوكسجين او عدم توفره في التربة والذي يؤثر بالتالي على فعاليات الاحياء المجهرية فيها . تقدر كمية النتروجين المعوض للجو عن هذا الطريق بـ (٢١٥ × ١٠^٦ طن سنويا) .

اما الطريق الثاني الذي يتم بواسطته تعويض النتروجين الجوي عن تطاير الامونيا من التربة الى الجو لقلة امتصاص جزيئات التربة لها وهذه الامونيا تأتي اما من تحول النتروجين العضوي كما اسلفنا او عن احتراق هذا النتروجين . وبالاضافة الى الامونيا تتحرر غازات نتروجينية اخرى عند عملية الاحتراق وهي اوكسيد النتريك (NO) وثاني اوكسيد النتروجين (NO_2) وتقدر كمية النتروجين المتطاير بشكل امونيا او غازات نتروجينية اخرى الى الجو بـ (١٨٥ × ١٠^٦ طن سنويا) وان ٩٠ ٪ من هذا النتروجين يأتي عن طريق التطاير .

انزيم النايتروجينيز NITROGENASE

سبق وان ذكرنا ان عملية تثبيت النتروجين بايولوجياً تجرى بمساعدة انزيم النايتروجينيز والصفات العامة لهذا الانزيم مهما كان مصدره تشير الى وجود نوعين من البروتين اللذين يحتويان على معادن Metalloproteins . البروتين الأول يحتوي على المولبدينوم Mo والحديد Fe وكبريت في مجموعة الثايول ويدعي هذا البروتين بـ بروتين Mo-Fe ، اما البروتين الثاني فيحتوي على حديد وكبريت ويدعى Fe^- . هذان البروتينان غير فعالين لوحدهما ولكن جزيئة الانزيم الفعالة تتكون من اتحاد هذين الجزيئين مع بعضها وهناك تشابه كبير في الوظيفة والتركيب الكيمياوي لهذا الانزيم حتى وان كانت الكائنات التي يستخلص منها بعيدة في السلم التصنيفي . ان بروتيني الانزيم يتخلقان في الخلية فقط عند نموها تحت ظروف ملائمة لعملية التثبيت وان تخليقهما يتوقف عند تنمية الخلايا بوجود الامونيا . ان بروتين Mo-Fe يفقد نشاطه عند تعرضه للاوكسجين في بضع دقائق اما بروتين Fe^- فأنه يتأثر بالبرودة اضافة الى حساسيته للاوكسجين . اما الانزيم الكامل فهو اكثر ثباتا من جزئيه ويمكن حفظه بدرجة حرارة صفر مئوى لمدة ثلاثين يوما تحت ظروف لاهوائية ويستعمل المختصون لهذا الغرض ايون الثايونيت الثنائي (Dithionate, $S_2O_4^=$) ولكنه وجد ان بعض تحضيرات هذا الانزيم من مصادر اخرى تتأثر بالبرودة وان معظم فعاليته تفقد خلال خزنه بدرجة حرارة ٥ْ م لليلة واحدة وان الفعالية تبقى نشطه لعدة اسابيع بدرجة حرارة الغرفة .

ولما كانت الجزيئة الفعالة للانزيم مكونة من اتحاد البروتينين مع بعضهما فعليه يجب وجود منطقتين فعاليتين لكل منهما احدهما للارتباط مع القاعدة Substrate والاخرى للارتباط بجزيئة البروتين الثانية ، وان اى تغير في اية واحدة من هذه المناطق الفعالة سوف يؤثر بالتالي على فعالية الانزيم باكمله . ولقد وجد ان جزيئة الانزيم الفعالة يمكن تخليقها من اتحاد بروتين Mo - Fe من مصدر معين وبروتين -Fe لمصدر آخر لكن هذه الجزيئة المتغايرة الاصل هي اقل فعالية من جزيئة الانزيم من بروتينين لهما اصل واحد . ان انزيم النتروجينيز يساعد على اختزال النتروجين الجزيئي الى امونيا .

$$N_2 + 6e^- + 6H^+ \longrightarrow 2NH_3$$

ولا تزال البحوث جارية لمعرفة ميكانيكية هذا التفاعل . ان لانزيم النتروجينيز القدرة على نقل الالكترونات من حاملها الى النتروجين وانه قادر على نقل الكترونين فقط في كل مرة يشترك فيها وقد اقترح حصول ثلاثة نقلات ينقل الكترونين في كل نقله لاختزال جزيئة النتروجين الى امونيا وكالاتي :

$N_2 + H_2$ ——— N_2H_2 مول / كيلو سعرة / ٤٤ + = ΔH_1
$N_2H_2 + H_2$ ——— N_2H_4 مول / كيلو سعرة / ٢٢ - = ΔH_2
$N_2H_4 + H_2$ ——— $2NH_3$ مول / كيلو سعرة / ٤٤ - = ΔH_3

لاتوجد اثباتات على تحرر المواد الوسط بين عملية تحول النتروجين الجزيئي الى الامونيا لأن الامونيا هي اول مركب ثابت عند اختزال النتروجين الجوي ، ويعتقد العلماء بأن المركبات الوسط تتكون لكنها تبقى مرتبطة بالانزيم ولا تتحرر . ومن الواضح ان اختزال النتروجين الجزيئي الى امونيا هو تفاعل من النوع المحرر للطاقة (Exergonic) فكيف تتولد الحاجة الى ATP لعملية التثبيت ؟ قد تأتي هذه الحاجة من وجود ثلاثة اواصر بين ذرتي النتروجين المكونتين للجزيئة الواحدة (N=N)ووجود مستو عالي لطاقة التنشيط High Energy Activation عند عدم وجود الانزيم .

من المعروف ان الانزيمات تخفض من هذا المستوى لجعل الجزيئة قادرة على التفاعل وبمستوى طاقة أوطأ ، ويحتمل ان يستعين انزيم النتروجينيز بطاقة متحررة من ATP لتخطي المستوى المطلوب لاشراك جزيئة النتروجين في التفاعل . ويوجد اختلاف في كفائة استخدام ATP باختلاف طريقة تحضير الانزيم وتتغير هذه الكفاءة بتغير الرقم الهيدروجيني ودرجة الحرارة وتركيز ADP ونسبة بروتين Mo-Fe الى بروتين -Fe ن هذا الاختلاف يتراوح بين ٠ - ١/٣ او اكثر لكمية ATP المستهلكة بين تفاعل وآخر .

معطي الالكترونات Electron Donór

ان عملية تثبيت النتروجين تحتاج الى الكترونات يجب توفرها للعملية وان على الاحياء المجهرية توفير هذه الالكترونات بطريقة او باخرى . ان طبيعة معطي الالكترونات تختلف باختلاف هذه الاحياء فسلجيا وباختلاف طرق معيشتها فبالنسبة للاحياء المجهرية الحرة المعيشة العضوية التغذية واللاهوائية التنفس مثل الكلوستريديوم (Clostridium) يكون معطي الالكترونات كربوهيدراتي الطبيعية مثل البايروفيت والفاكيتو كلوتاريت محررا الالكترونات بعملية التخمر واذا كانت طريقة التنفس هوائية فان الالكترونات تتحرر عن طرق الاكسدة . اما بالنسبة للاحياء الهوائية والتي تعيش تكافليا مع النبات فأن النبات يقوم بتوفير المواد الوسيطة التي تكون مصدرا لتلك الالكترونات ، فلقد وجد ان فوسفات النيكوتين امايد ثنائي النيوكليوتايد ($NADPH_2$) يشكل معطي للالكترونات كما هو الحال ازوتو باكتر فينلاندياي **Azotobacter vinelandii** . ان من المعروف عن NADP انه حامل للالكترونات وليس محررا لها ولكن بما ان هذا المركب ليست له

القدرة على تمرير هذه الالكترونات الى انزيم النتروجنيز مباشرة دون حملها على حامل لذلك يمكن اعتباره معطيا للالكترونات في هذه الحالة ولذلك تنتقل الالكـــــترونــــــات فيــــه الى حـــــاملهـــــا الاخر ثم الى انزيم النتروجينيز . لذلك فأن اي مركب او اية جزيئة تحرر $NADPH_2$ مثل الايسوستريت ، والماليت والكلوكوز السادس الفوسفات ممكن ان يعتبر محررا للالكترونات في عملية تثبيت النتروجين . لذلك يمكن اعتبار $NADPH_2$ اوسع معطي للالكترونات لأنه موجود في معظم الاحياء الجهرية التي لها القدرة على تثبيت النتروجين . ان معطي الالكترونات في البكتريا الضوئية التغذية والطحالب الزرقاء الخضرة غير معروف الى يومنا هذا ومن المحتمل ان يكون التفاعل الضوئي الكيمياوي . ورغم ان المعلومات حول ربط عملية التخليق الضوئي بعملية تثبيت النتروجين غير معروفة جيدا الا انه يمكن اختزال حامل الالكترونات التي يتطلبها تثبيت النتروجين بواسطة تفاعلات التخليق الضوئي كما لوحظ في بكتريا الكبريت الخضراء كلوروبزودوموناس ايثايلكم **Cloropseudomonas ethylicum**

اما في الطحالب الزرقاء الخضرة فهناك معلومات ثابتة حول عدم امكانية اختزال حامل الالكترونات لعملية التثبيت مباشرة بواسطة التفاعلات الضوئية ويمكن ان يعمل $NADPH_2$ الذي يتحرر من اكسدة الكلوكوز السادس الفوسفات وبمساعدة انزيم ديهايدروجنيز كمعطي للالكترونات في عملية تثبيت النتروجين كما هو الحال في الطحلب انابينا سيليندريكا **Anabaena cylindrica** .

وهناك كثير من المعلومات غير الواضحة بين علاقة عمليتي التخليق الضوئي وتثبيت النتروجين في الطحالب الزرقاء الخضرة وفي البكتريا الضوئية التغذية ، ولكنه يمكن القول بان عملية التخليق الضوئي لاترتبط بصورة مباشرة مع عملية تثبيت النتروجين الا في بكتريا الكبريت الخضراء لأن عملية التثبيت يمكن ان تحصل في الظلام ايضا . ان عملية التخليق الضوئي توفر المركبات التي تستلم الامونيا المتحررة في عملية تثبيت النتروجين وكذلك توفر مصدر الطاقة ATP التي تحتاجها عملية التثبيت .

حامل الالكترونات

ان عملية تثبيت النتروجين تحتاج الى ست عوامل تعمل بصورة مشتركة لانجاز العملية ، ومن هذه العوامل حامل الالكترونات وهو مادة لها القدرة على حمل الالكترونات ونقلها من انزيم الى آخر . ان حوامل الالكترونات التي تشترك في عمليـــة تثبيـــت النـــتروجـــين هي من نوع فـــيريـــدوكسين Ferredoxin وفلافودوكسين **Flavodoxin** وهذه لها القدرة على نقل الالكترونات الى انزيم النتروجنيز الذي يساعد بدوره على اختزال N_2 الى NH_4^+ وقد تم العثور عليها في

بكتريا لاهوائية اختيارية وبكتريا هوائية وبكتريا تكافلية مثبتة للنتروجين وبكتريا لاهوائية مضطرة وبكتريا ضوئية التغذية والطحالب الزرقاء المخضرة والنباتات . وتتميز هذه الفيرودوكسينات والفلافودوكسينات بأنها تملك جهد (اختزال ـ اكسدة) واطىء اي انها تستطيع استلام الالكترونات من مواد لها جهد اختزال واكسدة اعلى منها مثل $NADPH_2$ ثم تحولها الى مواد اوطأ جهدا وكذلك بتفاعلاتها العكسية عندما تتأكسد وتختزل ، اي ان لها القدرة في التحول من حالة اكسدة الى حالة اختزال وهذا التحول عكسي ان عمل هذين الحاملين ليس انزيميا حيث اتضح مؤخرا بأنها المختزلان الطبيعيان الوحيدان لانزيم النتروجينيز . على ان البحث لايزال جاريا حول تفاصيل عملية تثبيت النتروجين ولكن يظهر من نتائج الابحاث ان بروتين Fe^- من انزيم النتروجينيز هو الذي يختزل اولا بواسطة الفيريدوكسين في الخلية الحية ثم تقوم ATP بتوفير طاقة لتنشيط الالكترونات المنقولة الى البروتين هذا لكي يتم نقلها الى الجزيئة الثانية من البروتين في انزيم النتروجينيز وهو بروتين $MoFe^-$ الذي يقوم باختزال النتروجين الجزيئي الى امونيا .

١ ـ الفيريدوكسينات FERREDOXINS

وهي بروتينات تحتوي على الحديد والكبريت لها القدرة على الاختزال والتأكسد وبصورة عكسية وتملك جهد اكسدة واختزال واطيء (- ٤٠٠ ميليفولت) وتشترك هذه البروتينات في تفاعلات عديدة مثل اختزال انزيم النتروجينيز وانزيم الهيدروجينيز وانزيم ثالث مختص يدعى بالمختزل -NADP Ferredoxin Reductase .

تختلف الفيريدوكسينات المعزولة من مصادر مختلفة مثل النباتات والطحالب الزرقاء المخضرة والعديد من البكتريا فيما بينها في اوزانها الجزيئية وكمية ماتحويه من الحديد والكبريت وكذلك صفاتها في الاكسدة والاختزال وفي فعالياتها الحيوية ان بعض الفيريدوكسينات تملك القدرة على اختزال انزيم نتروجينيز مصدره كائن حي آخر غير الذي استخلص منه الفيريدوكسين نفسه .

٢ ـ الفلافودوكسينات FLAVODOXINS

هذه البروتينات تمثل مجموعة اخرى من حوامل الالكترونات التي تنتمي الى مجموعة فلافوبروتين Flavoprotein التي لها فعاليات حيوية مشابهة للفيريدوكسينات لكنها اقل كفائة في نقل الالكترونات لان لها جهد اكسدة واختزال ـ ٣٧٠ مليفولت) وهو اعلى بقليل من جهد الفيرودوكسينات (- ٤٠٠ ميليفولت) . لقد وجدت حوامل الالكترونات هذه في معظم الاحياء المجهرية التي لها القدرة على تثبيت النتروجين حيث انها وجدت في الاحياء اللاهوائية والهوائية .

تثبيت النتروجين في الاحياء المجهرية

تعتمد النباتات والحيوانات بصورة عامة في حاجتها للنتروجين القابل للتمثيل على قدرة الاحياء المجهرية في تثبيت النتروجين الجوي . ان عملية تثبيت النتروجين يمكن ان تحصل حياتيا بطريقة لاتكافلية كما هو الحال في بعض انواع البكتريا الحرة المعيشة والطحالب الزرقاء المخضرة التي لها القدرة على القيام بهذه العملية او تحصل بطريقة تكافلية بين الاحياء المجهريةوالنباتات العليا وتوجد المئات من النباتات التي لها القدرة على تثبيت النتروجين بواسطة الاحياء المجهرية المتكافلة معها والتي لايمكن لهذه النباتات من دونها ولوحدها القيام بهذه العملية الحيوية . ان هذه الاحياء المجهرية تنفرد بقدرتها الحياتية باستطاعتها تحويل غاز النتروجين الذي يعتبر خاملا بالنسبة الى الامونيا وذلك لاحتوائها على انزيم النتروجينيز الذي له القدرة على التفاعل وتنشيط هذا الغاز .

ان من الطرق المستعملة في قياس القدرة على تثبيت النتروجين حياتيا طريقة استعمال النظائر المشعة حيث تعتمد هذه الطريقة على تعريض الاحياء التي لها القدرة على تثبيت النتروجين الى غاز النتروجين المشع ($^{15}N_2$) ثم التحري عن الاخير كأحد مركبات البروتوبلازم اما الطريقة الاخرى فهي القدرة على اختزال غاز الاسيتيلين $HC \equiv CH$ الى اثيلين $H_2C=CH_2$ من قبل هذه الاحياء وبواسطة انزيم النتروجينيز الذي تمتلكه حيث انه وجد بأن الاحياء التي لها القدرة على اختزال غاز النتروجين الى امونيا تتمكن من اختزال الاسيتيلين الى اثيلين وذلك لان غاز النتروجين يشابه الاسيتيلين باحتوائه على الاصرة الثلاثية ($N \equiv N$) بين ذرتي الجزيئة الواحدة . ان طريقة اختزال الاسيتيلين هي اكثر استعمالا من طريقة النظائر المشعة لقياس القدرة على تثبيت النتروجين وذلك لسهولتها ولقلة تكاليفها بالاضافة الى حساسيتها العالية .

تثبيت النتروجين في الطحالب الزرقاء المخضرة

الطحالب الزرقاء المخضرة Cyanophyceae هي مجموعة من الطحالب لها نواة بدائية تغذيتها ذاتية ضوئية Photoautotrophic ولها قدرات كيمياوية حياتية كبيرة حيث انها تستطيع العيش على اوساط زرعية معدنية والبعض منها يتمكن من تخليق جميع تراكيبه من الماء وثاني اوكسيد وغازي الاوكسجين والنتروجين . ولا يعرف عن اي طحلب له القدرة على تثبيت النتروجين ويحتاج للفيتامينات تنتشر هذه الطحالب بصورة عامة في مناطق بيئية مختلفة حتى في البيئات القاسية مثل المناطق القطبية والينابيع الحارة .

تتوزع الطحالب الزرقاء المخضرة التي لها القدرة على تثبيت النتروجين على المجاميع الرئيسيةالثلاثة وهي : الطحالب الزرقاء المخضرة الوحيدة الخلية مثل

كليوكابسا Gloeocapsa والخيطية الحاوية على المتروست[1] مثل انابينا Anabaena وكالوثركسي Galothrix ونوستوك Nostoc والخيطية غير الحاوية على المتروست مثل انواع من الجنس اوسيلاتوريا Oscillatoria وبليكتونيما Plectonema والطحالب التي تملك القدرة على تثبيت النتروجين قد تعيش بصورة حرة او تكافلية مع الفطريات لايكنس Lichens او مع النباتات العليا .

الطحالب الزرقاء المخضرة هي الاحياء الوحيدة المعروفة والتي تكون تغذيتها ضوئية وتستطيع تثبيت النتروجين تحت ظروف هوائية وان قدرتها على تحليل الماء ضوئيا يمنحها مصدرا اخرا للالكترونات اضافة لما هو موجود في البكتريا الضوئية التغذية لأن الاخيرة تعتمد على مصادر عضوية او لاعضوية للالكترونات وليس الماء . هناك اثباتات بوجود طحالب زرقاء مخضرة ذات تغذية عضوية ضوئية ولها القدرة على تثبيت النتروجين ولكن هذه الطحالب تنمو بصورة ابطأ من تلك التي تثبيت النتروجين وهي ذاتية التغذية الضوئية .

تأثر بعض الظروف البيئية على عملية تثبيت النتروجين في الطحالب الزرقاء المخضرة

الطحالب الزرقاء المخضرة كمجموعة من الاحياء تظهر اختلافات طفيفة لمتطلبات نموها سواء اكانت لها القدرة على تثبيت النتروجين ام لا . كما وان هذه الطحالب تتأثر بالظروف البيئية المختلفة وسنتناول البعض منها في هذا الجزء .

١ ـ درجة الحرارة

ان درجة الحرارة الفضلى للطحالب الزرقاء المخضرة بصورة عامة وبضمنها تلك التي لها القدرة على تثبيت النتروجين تتراوح بين ٣٢,٥ ـ ٣٥° م وهذه اعلى من الدرجة الفضلى للطحالب الاخرى وتتأثر فعالية انزيم النتروجينيز بتغير درجة الحرارة ولقد وجد ان هذا الانزيم يتحفز كلما ارتفعت درجة الحرارة واقتربت من الدرجة الفضلى ولقد وجد كذلك ان انزيم النتروجينيز وهو داخل الخلية الحية لايشبه الانزيم المستخلص منها من ناحية تأثره بدرجة الحرارة الواطئة ويمكنه ان

---

(١) المتروست HETROCYST

وهي خلايا كبيرة سميكة الجدار لها صفات فسلجية وكيمياوية حياتية متميزة (عدم امتلاكها النظام الضوئي الثاني) وهناك اعتقاد سائد بأنها المواقع التي يتم فيها تثبيت النتروجين في الطحالب التي تمتلكها . تنتشر هذه الخلايا بين الخلايا الخضرية الاخرى في الطحالب الخيطية او في نهاية الخيوط وتظهر وكأنها خلايا فارغة تحت المجهر الضوئي اما تحت الالكتروني فيمكن مشاهدتها وفيها نظام غشائي متعرج ، وتظهر غنية بالرايبوسومات مغطاة بغطاء ذي ثلاثة طبقات تحيط بجدار آخر ذي اربعة طبقات .

يعمل بدرجات حرارية اعلى من الانزيم المستخلص ولقد وجد ايضا ان تأثير درجة الحرارة على فعالية هذا الانزيم في الطحالب اقل من تأثير الجفاف والضوء عليه حيث ان الطحالب الزرقاء المخضرة التي تتعرض للجفاف تستعيد قدرتها على تثبيت النتروجين بعد فترة قصيرة من اعادة ترطيبها وبما ان معظم هذه الطحالب لها غلاف مخاطي جيلاتيني سميك يساعدها على امتصاص الماء بسهولة وفقدانه ببطء . اما عملية التخليق الضوئي فأنها توفر مصدر الطاقة وكذلك معطي الالكترونات التي تحتاجها عملية تثبيت النتروجين .

٢ ـ الاوكسجين

يختلف تأثير الاوكسجين في التجارب الحية عن التجارب على انزيم النتروجينيز المستخلص لأن الانزيم المستخلص يتأثر بصورة غير معكوسة اي انه لايستطيع استعادة فعاليته بعد فقدانها عند تعرضه للاوكسجين ولكن هذا الانزيم يتمكن من استعادة فعاليته بعد فقدانها في الخلية الحية بعد تعرضه للاوكسجين . لقد فسرت هذه الظاهرة على استعادة تكوين كميات جديدة من هذا الانزيم باعادة الخلايا الى ضغط اوكسجين واطيء .

ويصح القول بصورة عامة على ان الطحالب الزرقاء المخضرة تستطيع تثبيت النتروجين بصورة افضل عند نموها في بيئة لها ضغط اوكسجين (PO_2) اقل من ٠,٢ الضغط الجوي ATM ، كما وان الطحالب الزرقاء المخضرة الخيطية التي لاتمتلك الهتروسست لاتستطيع تثبيت النتروجين الا عندما تتعرض لكميات قليلة من الهواء Microaerobic . ان ظاهرة تثبيت النتروجين تحت ضغط اوكسجين واطيء اي اقل من ٠,٢ الضغط الجوي لاينطبق على الطحالب الخيطية فقط بل على الطحالب الوحيدة الخلية ايضا حيث وجد ان الاخيرة تثبت النتروجين بصورة افضل عند تعرضها لضغط اوكسجين اقل من ٠,٢ الضغط الجوي مما لو كان الضغط اعلى من ذلك .

٣ ـ الرقم الهيدروجيني

ان تركيز ايون الهيدروجين الافضل لنمو الطحالب الزرقاء المخضرة بصورة عامة هو المتعادل او القاعدي القليل اما التراكيز الحامضية فأنها تحد من نموها ولكنه ، يمكن القول بأن تأثير تركيز ايون الهيدروجين على نمو الطحالب يتحدد ايضا بظروف النمو الاخرى ونوع الطحلب ، حيث انه من المعروف في البيئة الطبيعية بأن نمو الطحالب يقل في الحامضية منها ولقد وجد ان تثبيت النتروجين عند نمو الطحالب في بيئة حامضية يكون بدرجات ضئيلة وغير مهمة وقد يعزى ذلك الى قلة نموها في تلك البيئة .

٤ ـ تأثير الايونات

ان تأثير الايونات على نمو الطحالب الزرقاء المخضرة والتي لها القدرة على تثبيت النتروجين هو نفسه الذي يؤثر على الطحالب الزرقاء المخضرة بصورة عامة. وتوجد الايونات التي تهم الطحالب التي لها القدرة على تثبيت النتروجين بصورة خاصة فمثلا الحديد فأنه يدخل في تركيب بروتيني انزيم النتروجينيز، كما ويدخل في تركيب حوامل الالكترونات لعملية التخليق الضوئي مثل السايتوكروم والفيريدوكسين لذلك فأن شحة ايون الحديد تؤثر على تخليق هذه المركبات وبالتالي تؤثر على عملية تثبيت النتروجين وهناك ايون المولبدنوم Mo فهو الاخر يدخل في تركيب احد بروتيني انزيم النتروجينيز (بروتين ـ Mo-Fe)، فاذا نمت هذه الطحالب في محيط يحتوي على النتروجين او النترات تتولد الحاجة لهذا الايون اما اذا نمت في بيئة تحتوي على الامونيا فعندئذ تنتفي الحاجة اليه. والفسفور ايضا يؤثر على نمو الطحالب الزرقاء المخضرة التي لها القدرة على تثبيت النتروجين فهي تنمو بصورة افضل عند توفر الفوسفور بشكل لاعضوي وخاصة بشكل فوسفات ثنائية القاعدة (K_2HPO_4) والتي تشكل ايضا دارئاً جيدا للزرع. اما عند استعمال الفوسفات الاحادية القاعدة فأنها تؤدى الى تأثير عكسي وذلك لانها تحول الزرع الى رقم هيدروجيني اوطأ وهذا لايساعد الطحالب على النمو. ويمكن توفير الفسفور ايضا بشكل عضوي وهذا يحول الى الشكل اللاعضوي بواسطة انزيم الفوسفاتيز الذي تستفيد منه الخلية. ان اضافة الفوسفور تؤثر على فعالية انزيم النتروجينيز خاصة في الطحالب التي تنمو في بيئة تفتقر الى الفوسفور، اما الطحالب النامية في بيئة يتوفر فيها الفوسفور بكميات كافية فأنها لاتتأثر بنفس الدرجة. ان قلة الفوسفور تؤدى الى قلة كمية ATP وبالتالي الى قلة الطاقة المتوفرة لانزيم النتروجينيز.

الهتروسست مركز لتثبيت النتروجين

ان تكوين الهتروسست هو احدى الظواهر التي تعرضها الطحالب الزرقاء المخضرة مثل الانابينا **Anabaena** والنوديولاريا **Nodularia** والنوستوك **Nostoc**، ويتأثر بكمية النتروجين المثبت في البيئة حيث لوحظ بأن الطحالب التي لها القدرة على تكوين الهتروسست لو نميت في الزرع المستمر وفي بيئة تحتوي على الامونيا لاتولد الهتروسست على الرغم من قدرتها على ذلك، كما لوحظ ان هذا النمو الطحلبي لايظهر اى فعالية لانزيم النتروجينيز وان فقدان الفعالية هذه يتوافق مع فقدان الهتروسست. كما لوحظ في الطحلب انابينا سيلندريكا **Anabaena cylindrica**، وعند ازالة تأثير الامونيا من الزرع يستعيد الطحلب قدرته على تكوين الهتروسست ويرافق هذه الحالة استعادة لفعالية انزيم النتروجينيز. ان توقف تخليق انزيم النتروجينيز عندما تكون الامونيا وفيرة ماهي

الا عملية تنظيمية تقوم بها الاحياء للحفاظ على الاحماض الامينية ومصادر الطاقة ATP كي تستفيد منها الخلية في تخليق البروتين . ويمكن ان يكون تخليق انزيم النتروجينيز اغلى ثمنا بالنسبة للخلية من تخليق البروتينات الاخرى لذلك فهي توفر لنفسها هذا الثمن لانها لو خلقت هذا الانزيم فستذهب العملية هباءاً لان الخلية سوف لن تستفيد منه في عملية التثبيت لان النتروجين مثبت بشكل امونيا وهناك العديد من الاثباتات العلمية على ان الهتروسست هي المواقع الوحيدة لتثبيت النتروجين في الطحالب التي تكونها وان قدرة الهتروسست هذه لاتظهر عند فصلها عن الخلايا الخضرية . ان هذه الحقيقة لاتنفي قدرة الطحالب الزرقاء الخضرة التي ليست لها القدرة على تكوين الهتروسست على تثبيت النتروجين .

لقد وجد ايضا ان الهتروسست التي تثبت النتروجين ليست لها القدرة على تثبيت ثاني اوكسيد الكربون لانها تفتقر الى نظام كامل للتخليق الضوئي خاصة الصبغات مثل الفايكوسيانين Phycocyanin والوفايكوسيانين Allophycocyanin وكلورفيل أ Chloropyll A ولقد وجد كذلك بان الهتروسست الكبيرة بالعمر تفقد قدرتها على تثبيت النتروجين تدريجيا لكنها تستعيد تكوين صبغات النظام الضوئي الثاني Photosystem II وبمعنى آخر تستعيد قدرتها على تثبيت ثاني اوكسيد الكربون .

اذا كانت الهتروسست هي مواقع تثبيت النتروجين فمن اين تحصل على الطاقة وعلى عامل الاختزال اللذين تحتاجها هذه العملية خاصة انها لا تستطيع القيام بعملية التخليق الضوئي لفقدانها الصبغات؟ لقد وجد ان الكربون المثبت بعملية التخليق الضوئي في الخلايا الخضرية ينتقل الى الهتروسست غير الاغشية التي تفصل بينهما . ان هذا المصدر الكربوني يوفر عامل الاختزال لانزيم النتروجينيز وذلك عند دخوله احدى فعاليات الايض كما وان النظام الضوئي الأول داخل الهتروسست قد يوفر عامل الاختزال هذا . اما مصدر الطاقة فيتوفر من دورة الفسفرة الضوئية المغلقة (Cyclic Photophosphorelation) في الهتروسست نفسها ، ولقد وجد ان هذه الدورة هي المصدر الرئيسي للطاقة التي تحتاجها عملية تثبيت النتروجين بوجود الضوء . اما في الظلام فان الطاقة لعملية تثبيت النتروجين تتوفر بعملية الفسفرة المؤكسدة (Oxidative Phosphorelation) ويحتمل حصول هذه العملية اما في الهتروسست نفسها او في الخلايا الخضرية المجاورة وتنقل ATP الى الهتروسست .

- ان قابلية الخلايا الخضرية على تثبيت النتروجين في الطحالب المكونة للهتروسست لاتزال قيد الدراسة ولا يوجد اثبات قاطع على عدم قدرتها وخاصة تحت ظروف يكون الاوكسجين فيها غير متوفر لتثبيط عمل انزيم النتروجينيز او منع تكوينه .

العلاقة بين فعالية النتروجينيز والفعاليات الحيوية الاخرى

كنا قد ذكرنا بأن عملية تثبيت النتروجين تتطلب توفر مصدر للطاقة ATP ومصدر للالكترونات . ان الطاقة تتوفر عادة من اي مصدر له هذه القدرة مثل عملية التخليق الضوئي . ففي الطحالب الذاتية التغذية الضوئية توفر عملية التخليق الضوئي عامل الاختزال او معطي الالكترونات بالاضافة الى الطاقة ، كما وجد في هذه الطحالب ان دورة الفسفرة الضوئية تشكل مصدرا مهما ورئيسا لتكوين ATP في الضوء اما في الظلام فأن الطاقة تتوفر من عملية الفسفرة المؤكسدة . ولقد وجد انه عند قطع الاوكسجين عن الوسط او في الغاز فوق الوسط فأن عملية التثبيت للنتروجين تقل بصورة ملحوظة وذلك لعدم توفر الاوكسجين لعملية الاكسدة هذه اما مصدر الالكترونات لاختزال انزيم النتروجينيز فلقد وجد انه يتوفر من خلال سلسلة حوامل الكترونات خاصة بعملية التخليق الضوئي ايضا ، ويشك العلماء بأن الالكترونات المتحررة من تحلل الماء الضوئي يوفر عامل الاختزال Reductant لانزيم النتروجينيز ، من هذا يستدل على ان عملية التخليق الضوئي هي مصدر الالكترونات لانزيم النتروجينيز لأن هذه العملية توفر العديد من المركبات التي توفر بدورها الالكترونات بطرق متعددة منها التخمر او الاكسدة الهوائية ، ويمكن القول بأن عملية تثبيت النتروجين تتنافس مع عملية الاكسدة الهوائية على مصدر الالكترونات وان العديد من العوامل التي تساعد على تنشيط عملية التنفس هذه تقلل من عملية تثبيت النتروجين .

في الطحالب الزرقاء المخضرة قد تتحلل مباشرة بعملية التخمر الى البايروفيت وهذه توفر مصدر الالكترونات لعملية تثبيت النتروجين واحيانا تخزن هذه السكريات لحين الحاجة وعند عدم توفر الكربون في البيئة لتوفر عامل الاختزال لعملية تثبيت النتروجين . ان البايروفيت قد لاتشكل المصدر الرئيسي للالكترونات في عملية تثبيت النتروجين لبعض الطحالب مثل الانابينا Anabaena ، ويوجد مصدر آخر مهم لتوفير الالكترونات وهو طريق اكسدة السكر الخماسي او طريقة دورة الاحماض ثلاثية الكربوكسيل المؤدية الى كلايوكساليت Glyoxalate .

تثبيت النتروجين التكافلي في الطحالب الزرقاء المخضرة

ان الطحالب الزرقاء المخضرة سيانوفيسي Cyanophyceae لها القدرة على الحياة التكافلية مع بعض النباتات وذلك بنموها اما داخل الخلايا النباتية كما في الطحلب اووسستز Oocystis في نبات كلوكوسستز Glaucocystis او في فجوات على السطوح السفلى للثالس Thallus كما في الطحلب نوستوك Nostoc في نبات الليفرورت Liverwort في الجنس Blasia او مع الفطريات لتكون ليجنات Lichens بشكل نمو طبقي كما في انواع الكوليما Collema او منتشر بين خلايا

الفطريات كما في انواع بيليجيرا **Peltigera** . كما وتتكافل الطحالب مع النباتات العليا وذلك بوجودها في فجوات تحت اوراقها كما هو الحال مع الطحلب انابينا ازولى **Anabaena azollae** الذي يتكافل مع نبات Azolla وهو من التريدوفايتات Pteridophytes او في الجذور كما في الطحلب نوستوك في نبات السيكاد سيراتوميزيا Ceratomazia .

ان طريقة معيشة الطحالب الزرقاء المخضرة التكافلية هذه لاعلاقة لها بقدرتها على تثبيت النتروجين حيث تتمكن هذه الطحالب من تثبيته عند عزلها من النبات وتنميتها بالزرع النقي . ولقد وجد في النوستوك عند عيشه بصورة تكافلية ان نشاط انزيم النتروجينيز هو ٢ ــ ٣ مرات اكثر من نشاطه عند وجود الطحلب بصورة حرة وان معظم النتروجين المثبت ينتقل الى الفطر (مايكوبيونت Mycobiont) كما هو الحال في بليتجيرا افتوزا **Peltigera afthosa** .

وهناك نوع اخر من التكافل بين الطحالب والنباتات وهو وجودها في غدد خاصة تقع بين اتصال الاوراق مع السيقان كما هو الحال في الطحلب نوستوك بنكيفورمسي Nostoc **punctiforme** الذي يتكافل مع نوع من النباتات ينتمي للجنس كونيرا Gunnera وهي نباتات ثنائية الفلقة من الاشجار الموردة Angiospermae ان هـذه الطحـالـب لاتحتوي عـلى صبغـة التخليـق الضوئي الفايكوسيانين Phycocyanin وانها تفتقر لنظام التخليق الضوئي الثاني المسؤول عن نقل الالكترونات من الماء وتحرير غاز الاوكسجين . وتشير الادلة على حصول تثبيت للنتروجين حتى وان كان بكميات قليلة في هذه النباتات وان النتروجين المثبت يدخل في تركيب بروتين النبات نفسه .

تثبيت النتروجين في البكتريا

ان القدرة على تثبيت النتروجين في البكتريا تنحصر في انواع قليلة منها وهذه الانواع لا تشترك في صفات خاصة فيما بينها فيما عدا صفة القدرة على تثبيت النتروجين وان العديد منها له القدرة على تكوين انزيم الهايدروجينيز ولو ان الظاهرة الاخيرة لا تقتصر على البكتريا المثبته للنتروجين . تتمكن البكتريا من تحويل غاز النتروجين الى نتروجين خلوي اما بصورة حرة غير معتمدة على احياء اخرى او بصورة تكافلية وذلك عند تعايشها مع الاحياء الاخرى كالنباتات

تثبيت النتروجين في البكتريا بطريقة لاتكافلية

تنتشر البكتريا التي لها القدرة على تثبيت النتروجين بصورة حرة في التربة والرمال والمياه الارضية والخلجان والبحار والطين وعلى المواد الخضرية المتفسخة او على جذور النباتات واوراقها وفي امعاء بعض الحيوانات ويمكن القول بأن هذه الانواع موجودة في جميع البيئات ولكنها لم تعزل من بيئة حارة اى بمعنى آخر لايوجد نوع من بكتريا له القدرة على تثبيت النتروجين وهو اليف للحرارة Thermophilic . ان اجناس البكتريا التي لها القدرة على تثبيت النتروجين لاتنحصر في عائلة واحدة ولكنها تنتشر في العوائل المختلفة ولكن من الممكن حصرها بالنسبة لطرق معيشتها فمنها الهوائية مثل الازوتوباكتر Azotobacter والازوموناس Azomonas وبايجيرينكيا Beijerinckia وديريكسيا Derexia والبكتريا اللاهوائية المختارة مثل الباسيلس Bacillus وانتروباكتر Enterobacter وكلبيزيلا Klebsiella واللاهوائية المضطرة مثل الكلوستريديوم Clostridium وديسلفوتوماكيولم Desulfotomaculum وديسلوفبريو Desulfovibrio ان جميع هذه الاجناس هي عضوية التغذية .

اما البكتريا الذاتية التغذية والتي لها القدرة على تثبيت النتروجين فمنها ضوئية التغذية مثل رودمايكروبيوم Rhodomicrobium ورودوبزودوموناس Rhodopseudomonas ورودوسبريلم Rhodospirillum وكرومايتوم Chromatium وكلوروبيوم Chlorobium ويوجد نوع آخر ذاتي التغذية ولكن غير ضوئي وهو النوع ميثانوبكتريوم Methanobacterium وجميع اجناس البكتريا الضوئية التغذية المذكورة هي لاهوائية ان بعض انواع هذه البكتريا مثل ازوتوباكتروبايجيرينكيا تتعايش بصورة تكافلية على جذور بعض انواع النباتات مستفيدة من المركبات الكربوهيدراتية التي تفرزها الجذور ومستخدمة اياها كمصادر للطاقة . تختلف هذه البكتريا عن بكتريا العقد الجذرية التي تعيش بصورة تكافلية على النبات وذلك بعدم قدرتها على تكوين العقد .

العوامل التي تؤثر على تثبيت النتروجين في البكتريا الحرة المعيشة

ان تثبيت النتروجين في البكتريا الحرة المعيشة يتأثر بصورة ملموسة بعدد من العوامل الفيزيائية والكيماوية المحيطة بالبكتريا وان كمية النتروجين المثبت تعتمد كثيرا على تلك الظروف . ان معظم الدراسات حول عملية تثبيت النتروجين من قبل البكتريا الحرة المعيشة قد اجريت في المختبر ، ويمكن احيانا تطبيق هذه الدراسات والحصول على المعلومات من البيئة مباشرة . ولقد وجد في دراسة مختبرية عند تنمية البكتريا على الاوساط الزرعية ان كمية النتروجين المثبت حوالي ٢٠ مايكروغرام من النتروجين لكل ١ / مل من الوسط الزرعي مثل بكتريا

كلوروبيوم Chlorobium وخلال ٥ ايام نمو تحت ظروف لاهوائية ضوئية الى ١٠٥٠ مايكروغرام لكل ١ / مل من الوسط الزرعي لبكتريا ازوتو باكتر خلال ٣ ايام نمو تحت ظروف هوائية ، لذلك فأن دراسة فعل العوامل التي تؤثر على عملية تثبيت النتروجين يختلف من نوع الى اخر وبما ان هذه الانواع تنتشر بين المجاميع المختلفة في سلم التصنيف لذلك سوف نقتصر على العوامل الرئيسية فقط :

١ ـ درجة الحرارة :

تعتمد درجة الحرارة التي يثبت فيها النتروجين من قبل البكتريا على النوع وعلى الدرجة الفضلى للنمو فمثلا ان البكتريا الاليفة للحرارة المعتدلة **Mesophile** مثل الازوتوباكتر فأن الدرجة الفضلى لنموها ٣٠° م ولكنها قد تثبت النتروجين في درجة حرارة ٤٠° م اذا ماوجدت في التربة الاستوائية اما البايجرنكيا فأن الحدود الحرارية العليا لنموها هي اقل من الازوتوباكتر حيث انها لاتنمو في درجة حرارة تزيد على ٣٦° م بينما تستطيع بكتريا الازوت النمو حتى في درجة ٤٠° م او ٤٥° م .

٢ ـ الرقم الهيدروجيني :

ان الرقم الهيدروجيني الافضل بالنسبة لمعظم البكتريا المثبتة للنتروجين هو القريب من المتعادل ولكن توجد حدود دنيا وقصوى للرقم الهيدروجيني تختلف باختلاف نوع البكتريا فمثلا كلوستريديوم باستريانم **Clostridium pasteurianum** لها القدرة على تثبيت النتروجين بين رقمي الهيدروجين (٥,٥ ــ ٨,٠) والبايجرنكيا (١,٠ ــ ٣,٠) .

٣ ـ المعادن :

ان من المعادن المهمة التي يجب توفرها للبكتريا المثبتة للنتروجين هو المولبد نوم وان الحاجة لهذا المعدن قليلة (٠,١ جزء بالمليون) عند النمو الافضل . ان البعض من هذا المعدن قد يتوفر للبكتريا عن طريق مكونات الوسط الزرعي الاخرى مثل الكلوكوز وكملوث لها وذلك عند تنميتها في المختبر . ولقد وجد ان الحاجة لهذا المعدن تكون اشد لدى البكتريا التي تنمو بصورة اسرع كما وان الكميات تختلف بين رقم هيدروجيني واخر حسب النمو كما وجد في بعض الانواع من بكتريا الازوت مثل ازوتوباكتر فاينلانديا **A. vinelandii** ايزوتوباكتر كروكوكم **A. chroococcum** بأن معدن (فانديوم ٧) يمكن ان يعوض الحاجة الى المولبدنوم .

والحديد هو معدن آخر تحتاجه جميع انواع البكتريا المثبتة للنتروجين فهو يدخل في تركيب النتروجينيز والفيريدوكسين وان الحاجة للحديد تعتبر كبيرة

(٢ ـ ١٠ جزء بالمليون) مقارنة بالحاجة للمعادن الاخرى وان هذه الكمية تختلف من نوع الى اخر من البكتريا ولكن اذا وجد الحديد بكميات قليلة فأن بعض انواع البكتريا مثل كلوستردیوم باستريانم تكون حاملة الكترونات الفلافودوكسين بدل الفيرودوكسين .

الفوسفور :

وهو معدن آخر تحتاجه البكتريا لتثبيت النتروجين ولكن حاجتها اليه تختلف في الانواع المختلفة فالبعض منها مثل البايجرنكيا تستطيع النمو بوجود كميات ضئيلة TRACE منه والموجود كملوث لمحتويات الوسط الاخرى عند تنميتها في المختبر ولكن هذا النوع له القدرة على تحمل وجود الفوسفات في الوسط الزرعي بكميات تصل الى ٢ ٪ بينما في بكتريا الازوت يتوقف نموها بعشر هذه الكمية .

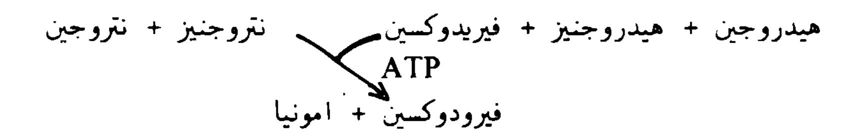
٤ ـ مصدر الكربون :

يوجد العديد من المصادر الكربونية التي تستغلها البكتريا الحرة المعيشة التي لها القدرة على تثبيت النتروجين كمستلم للالكترونات اضافة الى انها مصدرا كربونيا ، فبكتريا الازوت لها القدرة على استغلال مصادر كربونية عديدة مثل السكريات الاحادية والثنائية والاحماض العضوية والكحول والمركبات الارومية وتنفرد بعض الانواع منها بقدرتها على النمو وتثبيت النتروجين على مصدر معين مثل النوع ازوتوباكتر كروكوكم (**A. chroococcum**) الذي ينفرد بقدرته على النمو وتثبيت النتروجين على الغشاء وتستخدم هذه الصفة كوسيلة لفصل انواع بكتريا الازوت وعمل الاوساط الزرعية الاختيارية لها .

ان المصدر الكربوني للبكتريا الحرة المعيشة المثبتة لغاز النتروجين في الطبيعة يشمل الكحول الاثيلي وكحول البيوتين والفينول والخلات وغيرها .

٥ ـ الغازات :

أ ـ الهيدروجين : يعمل غاز الهيدروجين كعامل منافس (لكن ضعيف) لعملية تثبيت النتروجين وليس له تأثير على الخلايا التي تعيش في محيط يحتوي على النتروجين المثبت . ان اختزال النتروجين بواسطة النتروجنيز يتوقف عند وجود تراكيز عالية من الهيدروجين وكما يحصل في البكتريا اللاهوائية . ان انزيم النتروجينيز له القدرة على اختزال البروتونات الى غاز الهيدروجين عند عدم توفر النتروجين وبوجود محرر للالكترونات . اما في البكتريا الحاوية على انزيم الهيدروجينيز والفيريدوكسين مثل بكتريا الكلوستردیوم فأن غاز الهيدروجين قد يستعمل كعامل اختزال في عملية تثبيت النتروجين وكما يلي



ب ـ الاوكسجين : ان عملية تثبيت النتروجين تحصل فقط عند توفر ظروف لاهوائية في البيئة او داخل الخلية وذلك بتغير فسلجي او تركيبي فيها ليهئي ظروفاً مناسبة لانزيم النتروجينيز ، لأن هذا الانزيم يفقد طبيعة بشكل لاعكسي عند وجود الاوكسجين . ان اكثر البكتريا المثبتة للنتروجين تأثراً بوجود الاوكسجين هي البكتريا التي لها القدرة على اختزال الكبريتات . اما في الكلوستريديا فأن عملية تثبيت النتروجين يمكن ان تحصل بوجود كميات ضئيلة من الاوكسجين وذلك لاحتواء هذه البكتريا على انزيم الهيدروجينيز الذي يختزل هذا الاوكسجين ويقلل من تركيز هذا الغاز حول انزيم النتروجنيز . اما في البكتريا اللاهوائية المختارة مثل كليبزيلا Klebsiella فأنها تستطيع تثبيت النتروجين تحت ظروف لاهوائية فقط .

اما في البكتريا الهوائية التي لها القدرة على تثبيت النتروجين فيجب توفر ظروف داخل الخلية تحافظ على انزيم النتروجنيز من فقدانه القدرة على التثبيت بوجود الاوكسجين . لقد اتضح من التجارب الاخيرة على هذه البكتريا وجود حماية عن طريق التنفس ذلك بأن البكتريا هذه تزيد من سرعة تنفسها لتقليل ضغط الاوكسجين في الداخل كما في بكتريا الازوت او بوجود حماية في التركيب وذلك باحتواء البكتريا على شبكة من الاغشية وان انزيم النتروجنيز يرتبط فيها بشكل او بآخر ولا تزال البحوث مستمرة لمعرفة كيفية عمل انزيم النتروجنيز في هذه البكتريا .

جـ ـ اول اوكسيد الكربون : وهو من الغازات التي تثبط عمل انزيم النتروجنيز بصورة شديدة . ان وجود هذا الغاز بتراكيز واطئة يمنع نمو البكتريا المثبتة للنتروجين ولقد وجد في بكتريا الازوت ان تثبيط عملية تثبيت النتروجين يحصل بتركيز (٠,٠٠٢ ـ ٠,٠٠٦ ضغط جوي) لأول اوكسيد الكربون . اما في الكيلوستريديوم Clostridium فأن معظم فعالية الانزيم تثبط بتركيز (٠,٠٠٣ ضغط جوي) لكن هناك عددا من البكتريا اللاهوائية والتي تثبت النتروجين لها القدرة على اكسدة غاز اول اوكسيد الكربون الى ثاني أوكسيد الكربون .

د ـ **الامونيا** : تستخدم الامونيا كمصدر نتروجين بديل لغاز النتروجين . ولو كان للبكتريا المثبتة للنتروجين قابلية الاختيار بين النتروجين الجوي والامونيا فسوف تفضل الامونيا حتما عليه ، حيث انه وجد نتيجة للتجارب المختبرية ان تخليق انزيم النتروجينيز يكبت عند توفر الامونيا في الوسط الزرعي ولكنها لاتثبط فعالية النتروجينيز الذي خلق فعلا . كما وجد في هذه التجارب ان انزيم النتروجينيز لايحفز بوجود المادة الاساس (النتروجين) اي ان البكتريا تقوم بتكوينه حتى عندما عدم وجود النتروجين . وكذلك وجد ان كمية الامونيا التي تكبت تخليق انزيم النتروجينيز تتناسب مع كمية الخلايا في الزرع ، وان وجود الامونيا بتراكيز اقل من (١٠ مايكرمول) لايكبت انزيم النتروجينيز في بكتريا ازوت فاينلاندياي ولكن وجود الامونيا في الطبيعة حتى ولو كان بتراكيز واطئة يؤثر على تثبيت النتروجين وذلك عند قلة اعداد البكتريا المثبتة للنتروجين في بيئة معينة .

تثبيت النتروجين في البكتريا بطريقة تكافلية

يمكن تعريف المعيشة التكافلية بأنها (حالة التداخل الفسلجي المتوازن بين كائنين او اكثر) . ان هذه الظاهرة تتمثل بست اسس وتعتبر المعيشة قائمة عند توفر اربعة منها .

١ ـ ان ظاهرة التكافل يجب ان تكون ثابتة في دورة حياة هذه الاحياء .
٢ ـ من الضروري وجود تماس مباشر بين الاحياء المتكافلة .
٣ ـ تبادل مركبات الايض Metabolites بالنقل من كائن واحد او بين الكائنين .
٤ ـ توفر المعيشة التكافلية طريقة بيئة جديدة تعتبر امتدادا للمدى البيئي .
٥ ـ يعطى التعايش المتكافل تأثيراً وراثياً شكلياً .
٦ ـ ان مركبات الايض المكونة عن هذه الطريقة من التعايش لايمكن تكوينها من قبل اي احد من الكائنين المتكافلين لوحده .

ان بعض انواع البكتريا التي لها القدرة على على تثبيت النتروجين تتعايش مع النباتات البقولية العليا **Leguminous** او غير البقولية **Non-Leguminous** وسيتم بحث المجموعتين في هذا الجزء من الفصل كل على حدة .

تعايش البكتريا على النباتات غير البقولية :

ان البكتريا المثبتة للنتروجين والتي تتعايش على النباتات غير البقولية قد توجد على بيئة الورقة **Phyllosphere** لكنه لاتوجد اثباتات قاطعة بحصول عملية تثبيت النتروجين على بيئة الورقة بالرغم من وجود بكتريا لها القدرة على

هذه العملية في تلك البيئة . ويعتقد البعض ان العملية قد تحصل ولكن لايمكن قياسها بالرغم من دقة الطريقة المستعملة للقياس وذلك لقـلة اعـداد البكتريا المتعايشة تكافليا Microsymbiont او ان عملية تثبيت النتروجين وحساسيتها للاوكسجين تتثبط في بيئة الورقة وذلك لتحرر الاوكسجين في عملية التخليق الضوئي او ان العملية لاتحصل عند التعايش بين البكتريا والنبات بالرغم من قدرة البكتريا على تثبيت النتروجين في المزارع النقية . ان النباتات في هذه الحالة يوفر بعض المركبات الكربونية كالسكريات التي تستفيد منها البكتريا وتبقى قضية استفادة النبات من هذا التعايش غير واضحة . توجد انواع من البكتريا التي تتعايش بصورة تكافلية مع جذور النباتات غير البقولية (جميعها ثنائية الفلقة) واغلب هذه البكتريا ليست حقيقية (Eubacteria) ولكنها عليا تنتمي الى رتبة اكتينومايسيتيلس Actinomycetales الجنس فرانكيا Frankia .

اما النباتات التي تتعايش معها هذه البكتريا فهي انواع من الاجناس التالية :

اليـاكنـاس Elaeagnus ، النس Alnus كومبتونيـا Comptonia مـيريكـا Myrica ، كازوارينا Casuarina ، ديسكاريا Discaria سيانوثس Ceanothus شيفيرديا Shepherdia هيبوفي Hippophae . سيركوكاربس Cercocarpus برشيا Purshia درايس Dryas ، كورياريا Coriaria كوليتيا Colletia .

ان جنس رايزوبيوم Rhizobium الذي يتعايش مع النباتات البقولية بصورة رئيسة قد يتعايش مع النباتات غير البقولية ايضا وهذه النباتات مثل تربيولس Tribulus ، فاكونيا Fagonia ، زايكوفايلم Zygophyllum وتريما Trema .

عند تعايش البكتريا التكافلي مع جذور النباتات غير البقولية تكون سرعة تثبيت النتروجين القصوى عند وصول كميات من المركبات الكربوهيدراتية المتكونة حديثا من عمليات التخليق الضوئي الى العقد الجذرية وان النتروجين المثبت ينتقل كجزء من المركبات العضوية عبر نسيج الخشب Xylem الى قمة النبات وتبلغ الكميات المنقولة من النتروجين من العقد ٩٠٪ من النتروجين المثبت . ان عملية النقل هذه تحدث بصورة سريعة ، ولكن بالرغم من هذه السرعة تتجمع كميات لابأس فيها من هذه المركبات في العقد نفسها .

تحتاج النباتات التي تنمو على غاز النتروجين الى بعض المعادن لنموها وهذه المعادن لاتختلف بطبيعتها عن المعادن التي تحتاجها النباتات الاخرى فيما عدا بعض المعادن النادرة TRACE اهمها المولبدنوم والكوبالت حيث يدخل الاول في تركيب انزيم النتروجينيز والثاني كعامل نمو للاحياء المجهرية المتكافلة التي تقوم بتثبيت النتروجين . فالمولبدنوم يعتبر ضروريا لتكوين العقد الجذرية في النباتات غير البقولية كما هو الحال في النباتات البقولية .

سبق وان ذكرنا في هذا الفصل ان تثبيت النتروجين بواسطة الاحياء المجهرية التي لها القدرة على ذلك يتأثر بالغازات الموجودة في البيئة ومن هذه الغازات النتروجين الجوي والاوكسجين والهيدروجين واول اوكسيد الكربون فبالنسبة لتركيز غاز النتروجين في البيئة فانه يؤثر على البكتريا المتكافلة على جذور النباتات غير البقولية . ففي تجارب مقارنة ولنباتات غير بقولية وجد ان معدل ثابت سرعة التفاعل الاقصى Km لعملية تثبيت النتروجين في نبات مريكاسيريفيرا **Myrica cerifera** كان (٠,٠٦٩ ± ٠,٠٠٤ ضغط جوي) من النتروجين وهو ثلاثة مرات اكبر من ذلك الثابت لنبات بقولي هو فول الصويا **Soybean** .

اما بالنسبة لغاز الاوكسجين فان تأثيره على تكوين العقد ووظيفتها في النباتات غير البقولية مهما وواضحا ، ان هذه التأثيرات تعتمد على تركيز غاز الاوكسجين في البيئة وبصورة عامة توجد حدود فضلى تتراوح في بعض النباتات (من ٢٠ ـ ٣٠٪ حجم/ حجم) اوكسجين في الخليط الغازي وان تراكيز الاوكسجين الاقل من الفضلى تقلل من عملية تثبيت النتروجين والتراكيز الاعلى منها تثبط العملية بشدة .

اما غاز الهيدروجين فانه يؤثر على عملية تثبيت النتروجين في النباتات غير البقولية كتأثيره على النباتات البقولية التي تمت دراستها . ولقد وجد في هذه النباتات ان عملية تثبيت النتروجين تثبط بصورة متقاربه في البقوليات وغير البقوليات وذلك عند وجود تركيز لغاز الهيدروجين مقداره ٦٠٪ حجم/ حجم في الخليط الغازي .

اما غاز اول اوكسيد الكربون فتثبيطه لعملية تثبيت النتروجين متشابه في النباتات البقولية وغير البقولية فوجود تركيز لغاز اول اوكسيد الكربون في الخليط الغازي مقداره ١٪ حجم/ حجم يجعل عملية التثبيت تتثبط سواء في البقوليات او غير البقوليات ان ميكانيكية عمل هذا الغاز على تثبيت النتروجين غير معروفة الى الآن وذلك لعدم وجود الهيموكلوبين **Hemoglobin** في عقد جذور النباتات غير البقولية وان هذه الصبغة موجودة في عقد جذور النباتات البقولية وتدعى ليكهيموكلوبين **Leghemoglobin** ان وظيفة الليكهيموكلوبين تتعلق بقدرتها على الارتباط مع الاوكسجين مكونة اوكسيليكهيموكلوبين **Oxyleghemoglobin** عند تنفس الخلية وان غاز اول اوكسيد الكربون يشبط عملية التنفس عند وجود تراكيز واطئة من الاوكسجين وذلك لأن غاز اول اوكسيد الكربون يمنع ارتباط الاوكسجين مع الصبغة .

ان وجود البكتريا في العقد الجذرية للنباتات غير البقولية يؤثر تأثيرا فعالا على كمية النتروجين في التربة وقد تبلغ كميات النتروجين المثبتة في التربة وتحت

ظروف حقلية ٦٠ ـ ١٠٠ كغم وقد تصل الى ٢٠٠ كغم في بعض الاجناس لكل هكتار سنويا . ان هذه النباتات تتميز عن النباتات البقولية بأنها تعيش في بيئات متغايرة مثل المناطق المعتدلة وتحت المنطقة الاستوائية والمناطق كثيرة الامطار والمناطق الجافة وان ظروف البيئة الطبيعية قد تصل الى الظروف القاسية مثل المناطق الاستوائية والمناطق القطبية لذلك يمكن استعمال هذه النباتات لاستصلاح الاراضي المتآكلة والخالية من النباتات والتي لايمكن استعمال النباتات البقولية فيها لاستعادة صلاحيتها للزرع ولا تستعمل البقوليات في هذه الحالة لانها تنمو في بيئة محدودة الظروف وضيق مدى التغاير بالاضافة الى حاجتها الى المعادن بصورة اوسع من غير البقوليات .

تكافل البكتريا مع النباتات البقولية :

البقوليات هي نباتات ذات فلقتين تنتمي الى العائلة النباتية ليكيومينوسي Leguminosae وهي من اهم النباتات المشمولة بتثبيت النتروجين التكافلي . تحتوي هذه العائلة على ثلاثة اقسام تحت العوائل Subfamilies اكبرها بابيليونويدي Papilionoidae وهذه تحتوي على اجناس لها القدرة على تثبيت النتروجين منها ترايفوليم Trifolium وميليلوتس Melilotus ومديكاكو Medicago ولوتس Lotus وفاصيولس Phaseolus وداليا Dalea وكروتلاريا Crotalaria وفيشيا Vicia وفيكنا Vigna وبيسم Pisum ولاثيرس Lathyrus اما تحت العائلة ميموسويدي Mimosoidae وسيسالبنيويدي Caesalpinioidae فتحتويان على عدد من الاجناس اقل من الاولى .

ان البكتريا التي تتكافل مع انواع هذه العائلة تعود للجنس رايزوبيوم Rhizobium ويعرف هذا الجنس وانواعه من البكتريا بأن لها القدرة على تكوين عقد جذرية متميزة الشكل في انواع العائلة البقولية وهذه البكتريا هي اكثر الانواع التي اجريت دراسات عليها نظرا لاهميتها الاقتصادية في تثبيت النتروجين . ان الرايزوبيوم لها شكل عضوي طوله من (٠,٥ ـ ٠,٩ ميكروميتر × ١,٢ ـ ٣,٠ ميكروميتر) سالبة لصبغة غرام وتكون عادة متحركة بواسطة اسواط تنتشر حول جسم الخلية او اسواط قطبية او تحت قطبية موجودة بصورة منفردة او زوجية لاتكون السبورات وتحتوي على حبيبات من بيتاهيدروكسي بيوتريت المتعددة Poly-B-Hydroxy-butyrate . وتكون تغذيتها عضوية ومعيشتها هوائية وتحتاج الى اوساط زرعية غنية للنمو ودرجة حرارتها الفضلى ٢٥ ـ ٣٥ْم . زمن جيلها ذو معدلين ، البعض منها سريع النمو وزمن جيله يتراوح من ٢ ـ ٤ ساعة والآخر بطيء النمو وله زمن جيل من ٦ ـ ٨ ساعة ويحتاج الى عدة ايام لتظهر مزارعه على الاوساط الزرعية الصلبة . وفي اغلب الاحيان

يطلق على الاشكال المتعددة لهذه البكتريا بالبكترويد Bacteroid وهذه هي الخلايا التي تشكل معظم البكتريا الموجودة داخل العقد الجذرية ولها اشكال وفسلجة متميزة . تحتوي البكترويد على انزيم النتروجينيز الذي تفتقر اليه الخلايا النامية على الاوساط الزرعية الاعتيادية فأذا احتوت الاوساط الزرعية على مصادر كربونية مختارة بصورة دقيقة واذا كان ضغط الاوكسجين قليلا يمكن لهذه الخلايا ان تكون انزيم النتروجنيز على هذه الاوساط الزرعية . كما وان هناك اختلافا واضحا بين البكترويد وخلايا الرايزوبيوم النامية على الاوساط الزرعية وهذا الاختلاف يقع في طبيعة البروتين الحاوي على الحديد (Hemoprotein) .

العلاقة الفسلجية والكيمياوية الحياتية بين العقد الجذرية والمضيف في البقوليات

ان المعلومات عن فعاليات الايض بالنسبة للنتروجين وفي داخل العقد قليلة جدا ولكن التفاعلات الاولية لتثبيت النتروجين كانت قد درست بطريقة توفير غاز النتروجين المشع(N_2^{15}) ثم التحري عن هذا النتروجين في مختلف المركبات النتروجينية في العقد . ولقد وجد كما سبق ذكره ان اول المركبات الثابتة في الخلية لهذا النتروجين هي الامونيا وهذه ترتبط مع المركبات الكربوهيدراتية لتكوين المركبات النتروجينية العضوية . ان من هذه المركبات العضوية والرئيسية التي تحتوي على النتروجين المثبت وكما وجد في بعض النباتات لنبات النس Alnus هو حامض السترولين Citrulline وذلك عبر فوسفات الكارباميل Carbamyl Phosphate ، كالاتي : ــ

$$^{*}NH_3 + CO_2 + ATP \xrightarrow[\text{مخلق فوسفات الكاربامييل}]{\text{انزيم}} H_2\overset{*}{N}-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-O-P + ADP + P_i$$

فوسفات الكارباميل

انزيم اورنثين ترانس كارباميليز (Transcarbamylase)

$$+ H_2N-(CH_2)_3-\underset{NH_2}{\underset{|}{C}}-COOH$$

حامض الاورنثين

$$\downarrow$$

$$H_2\overset{*}{N}-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-NH-(CH_2)_3-\underset{NH_2}{\underset{|}{CH}}-COOH + P_i$$

حامض السترولين

اما في معظم النباتات الاخرى فان النتروجين المعلم يظهر في حامض الكلوتاميك Glutamic acid اولا وذلك بتأمين حامض الفاكيتوكلوتاريك α,-ketoglutaric وبمساعدة انزيم كلوتاميك ديهايدروجينيز (glutamic dehydrogenase) ثم نقل جذر الامين بعد ذلك من هذا الحامض لتخليق مركبات امينية اخرى مر ذكرها في التخليق الحياتي . ان انزيم كلوتاميك ديهايدروجنيز اضافة الى الانزيم الذي يساعد على تخليق حامض الفاكيتوكلوتاريك والذي يدعى ايسو ستريك ديهايدروجنيز Isocitric dehydrogenase يوجدان داخل الخلايا البكترية في العقد الجذرية وفي الخلية النباتية التي تحمل هذه البكتريا . اما المركبات التي تنقل من العقد الى سائر اجزاء النبات الاخرى فهي حامض السبارتيك ومختلف الاميدات Amides . ولقد وجدت في البكتريا والخلايا النباتية الانزيمات التي تساعد على نقل مجموعة الامين الى مختلف المركبات الاخرى . وكما يحصل نقل الاحماض الامينية من العقد الجذرية الى سائر اجزاء النبات الاخرى ربما يحصل نقل عكسي ايضا اي تنقل هذه المركبات الى العقد الجذرية بعد تخليقها في اجزاء النبات الاخرى . ان واسطة نقل المركبات النتروجينية المختلفة من العقد الجذرية الى الاجزاء الاخرى من النبات هي الخشب وتختلف المركبات المنقولة عبر الخشب بين نبات وآخر وان عملية النقل هذه هي عملية فعالة (تحتاج الى طاقة) ومختارة Selective . ان طبيعة تكوين العقد الجذرية تجعل فقدان هذه المركبات من داخل العقد الى سطحها قليلة الاحتمال ، وان النتروجين العضوي ينقل الى التربة عند تفسخ العقد والجذور .

ان حاجة العقد الجذرية الى النبات منذ بدء نشوئها حتى تكوينها الكامل لايمكن اهمالها ، حيث ان النبات المضيف يوفر عادة مختلف انواع المركبات الغذائية وربما مركبات اخرى (كعوامل النمو مثل الثايمين والبايوتين اللذان تحتاجها الرايزوبيوم) والتي تحتاجها العقد وبكميات حسب حاجة الاعضاء التكافلية الانية .

ان من اهم هذه السكريات المتخلقة بعمليات التخليق الضوئي في النبات والتي تعتبر من اهم مصادر الطاقة والكربون لعملية تثبيت النتروجين . ان مركبات الكربون هذه تستخدم ايضا لتخليق مختلف المركبات النتروجينية بعد تفاعلها مع الامونيا المتخلقة في عملية التثبيت ، وتعتبر هذه المركبات الكربونية المنظم الطبيعي لعملية تثبيت النتروجين في العقد الجذرية وان اي ظاهرة طبيعة كالظلام وسقوط الاوراق او قطع الاجزاء العلوية من النبات يؤدي الى انخفاض فعل انزيم النتروجينيز .

العوامل الفسلجية المؤثرة على تثبيت النتروجين في العقد الجذرية التكافلية للنباتات البقولية :

ان جميع العوامل التي تؤثر على نمو النبات المضيف تعتبر عوامل مؤثرة بصورة مباشرة او غير مباشرة على عملية تثبيت النتروجين . وبالاضافة الى ذلك توجد بعض العوامل الاخرى المتخصصة بعملية التثبيت ذاتها . من هذه العوامل توفر العناصر والمركبات الكيمياوية التي تعتبر ضرورية لعملية التثبيت مثل عنصر المولبدنوم وعنصر الكوبالت ، فالمولبدنوم يدخل في تركيب احد بروتيني انزيم النتروجينيز الذي سبق وتكلمنا عنه . اما عنصر الكوبالت فيدخل في تركيب فيتامين ب ١٢ (B 12) الذي له علاقة في تخليق صبغة الهيموكلوبين المسؤولة عن تنظيم الاوكسجين عند التنفس . ويمكن اعتبار اي معدن يؤثر على توفير الطاقة لعملية التثبيت او تمثيل نواتج التثبيت عاملا مؤثرا على تثبيت النتروجين في العقد الجذرية . ان البوتاسيوم والفوسفور والحديد والنحاس والكبريت والكالسيوم وغيرهم يعتبرون عناصر مهمة لهذه العملية فالبوتاسيوم يلعب دورا في عملية التخليق الضوئي والفوسفور مهم في تركيب المركبات الوسط لتمثيل المركبات الكربوهيدراتية وعنصر الحديد والنحاس والكوبالت تلعب ادوارا مهمة لانها تدخل في تركيب المركبات الوسط او الانزيمات في الخلية اما الكالسيوم فيلعب دورا مهما في تكوين العقد الجذرية نفسها .

من المؤثرات الاخرى على عملية تثبيت النتروجين هي عوامل التربة فمثلا النباتات البقولية لاتتحمل الجفاف الكثير او زيادة الماء في التربة مما يؤدي الى انعدام الغازات فالبقوليات التي تنمو في المناطق الجافة تكون العقد الجذرية في اجزاء التربة العميقة والرطبة اما تلك التي تنمو في المناطق المائية كالمستنقعات فتولد عقدها الجذرية بالقرب من سطح الماء . اما تأثر العملية بدرجات الحرارة فتعتمد مقدار تأثر النبات المضيف بها وان درجة الحرارة الفضلى للمضيف تعتبر الدرجة الفضلى لعملية التثبيت لذلك فهي تختلف من نوع من التكافل الى آخر ولكن بصورة عامة يمكن اعتبار المدى بين ٢٤ ــ ٣٠°م هو الافضل بالنسبة لعملية تثبيت النتروجين . تتأثر العقد الجذرية بالتراكيز العالية من مركبات النتروجين اللاعضوية مثل النترات والنيترايت والامونيا وان هذا التأثير مثبط لتكوين العقد نفسها وتختلف درجة التأثير باختلاف عمر العقد حيث ان العقد الحديثة التكوين تتأثر بدرجة اكبر من العقد المتكونة قبلها . ولقد وجد في نبات بيسم ارفينس **Pisum arvense** ان تأثير النتروجين المتحد **Combined nitrogen** هو تقليل كمية الكربون المثبت بعملية التخليق الضوئي والنازل الى العقد مما يؤدي الى تثبيط عملية تثبيت النتروجين . ان هذا التثبيط يعتمد طبعا على تراكيز النتروجين المتحد .

الفصل الثامن

التخمر

اكتشف الانسان نواتج التخمر وتذوقها دون ان يعلم ماهيتها او اسبابها لقد ورد ذكر عمل الخمور منذ العصور التأريخية السحيقة ولقد ذكر ذلك في لوحات يرجع تأريخها الى مايقارب ٢٠٠٠ سنة قبل الميلاد عثر عليها عند التقيب في الاثار السومرية والاكدية في بلاد مابين النهرين وكذلك في الحضارة الاشورية حيث ذكرت بأن نبي الله نوح (ع) قد حمل معه في سفينته شرابا مخمرا يعتقد بأنها ماء الشعير عندما حدث الطوفان . وجاء وصف صناعة التخمر في بعض الاثار المصرية التي يرجع تأريخها الى ٢٥٠٠ سنة قبل الميلاد ومما لاشك فيه ان الكتب الدينية السماوية ذكرت الخمور في اكثر من مجال وعلى سبيل المثال لقد جاء ذكر الخمر في الآية الكريمة من صورة النحل في القرآن الكريم (بسم الله الرحمن الرحيم) ومن ثمرات النخيل والاعناب تتخذون منه سكرا ورزقا حسنا ان في ذلك لآية لقوم يعقلون صدق الله العظيم .

لقد اعتقد الانسان ان التخمر ماهو الا عمليات كيمياوية بحته لاعلاقة للاحياء المجهرية فيها ، ولم يعرف دور هذه الاحياء في التخمر الا بعد ان اثبت باستور ان التخمر الكحولي جاء نتيجة لعمل خلايا حية هي الخمائر واستطاع ان يشخص بعض امراض الخمور والبيرة واسباب حموضتها ومرارتها ولقد ذكر سابقا ان الاحياء المجهرية ولغرض الحصول على الطاقة تقوم بعمليات اكسدة واختزال لمركبات مختلفة وبطرق تعتمد على الطبيعة الكيمياوية لتلك المركبات ، كما وان احدى طرق الحصول على الطاقة هي عمليات التخمر ولو بكفائة قليلة والتي يكون فيها معطي الالكترونات ومستلمها النهائي مادة عضوية ، وان الاحياء المجهرية تسلك واحدة او اكثر من عمليات الاكسدة والاختزال تلك حسب ظروفها البيئية ونوع الغذاء المتوفر لها . وان الاختلاف بين الاحياء المجهرية في تلك العمليات يكمن في سلوكها الذي يتبع مرورها بتلك الطرق وسنتناول في هذا الفصل السلوك الذي تتبعه الفطريات والخمائر والبكتريا كلا على حده .

الخمائر

تحصل الخمائر على الطاقة وعلى المركبات الكربونية لبناء وحدات خلاياها من مركبات عضوية مثل السكريات المختلفة والكحوليات والاحماض العضوية والامينية والمركبات الهيدروكربونية . ان خلية الخميرة النامية على هذه المركبات العضوية المختلفة لايكون الاختلاف في تركيبها ولكن تختلف في طرق اكسدة هذه المركبات ونواتج تلك الاكسدة . فلو اخذنا سكر الكلوكوز كمثال على المركب العضوي لكونه سكرا قابلا للتخمر من قبل جميع انواع الخمائر تقريبا فأن الخمائر تؤكسد هذا السكر وعن طريق موحد لكل من عمليتي التنفس الهوائي والتخمر حتى الوصول الى البايروفيت وان الاختلاف بين تخمر الكلوكوز وحرقه بالتنفس هو في مصير هذه البايروفيت ففي عملية التنفس (الفصل السادس) تدخل البايروفيت دورة الاحماض الثلاثية الكربوكسيل وتنتهي باحتراقها كليا الى ثاني اوكسيد الكربون وماء . اما في التخمر فأن البايروفيت تتأكسد ايضا ولكن المستلم النهائي للالكترونات هو مركب عضوي ، وان اهم نواتج هذه الاكسدة هي الكحول المثيلي وثاني اوكسيد الكربون وكالاتي :

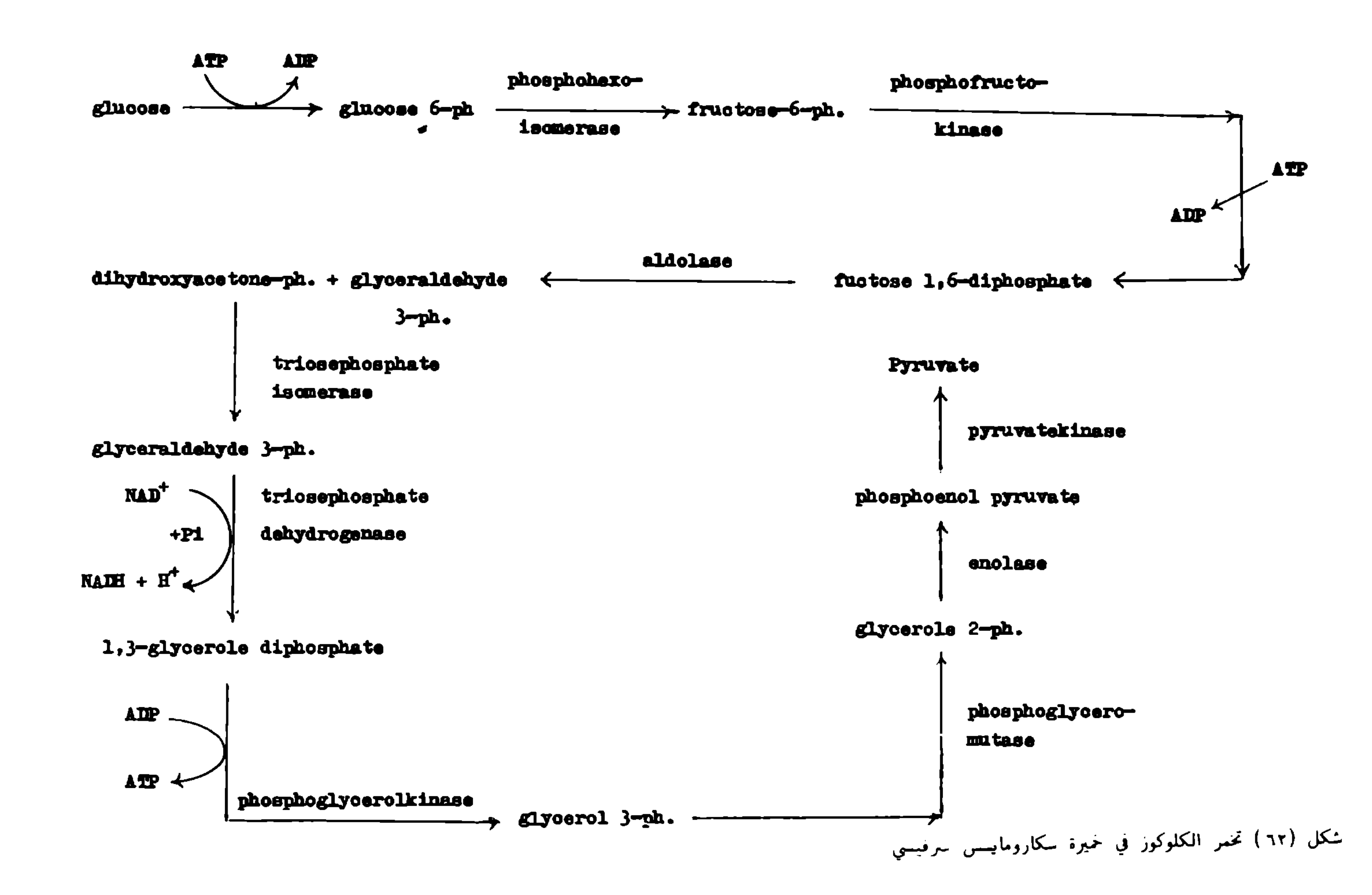
$$C_6H_{12}O_6 \longrightarrow 2C_2H_5OH + 2CO_2$$

سكر الكلوكو ——اكسدة بالخمائر——> كحولي مثيلي + ثاني اوكسيد الكربون

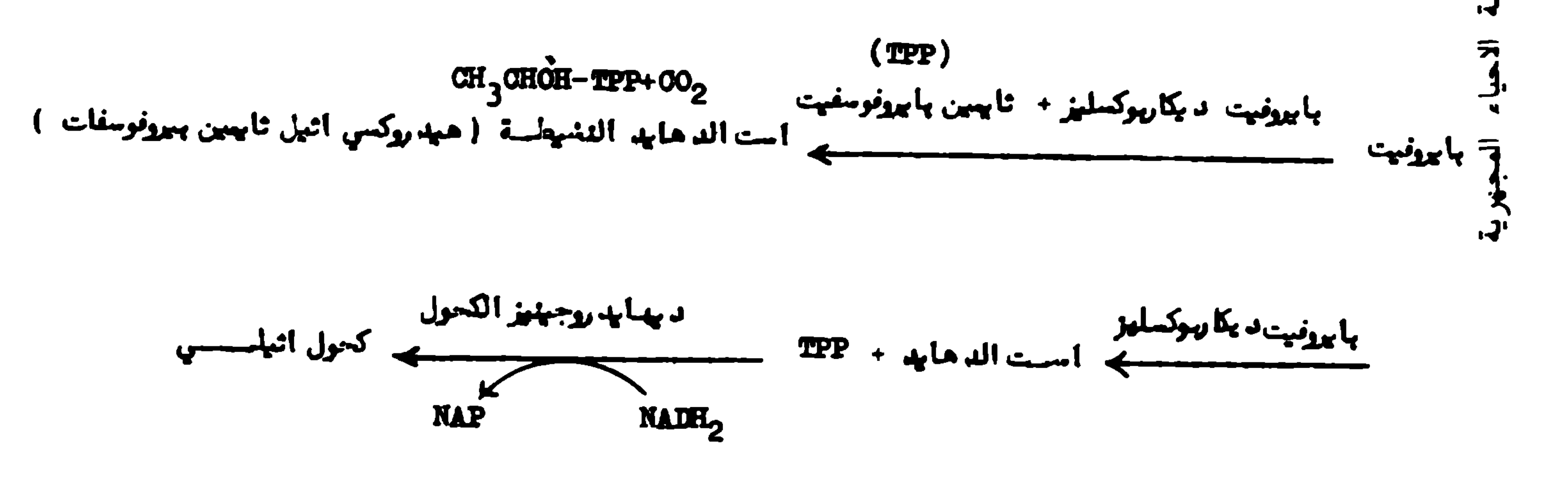
ان عملية التخمر هذه والتي بتحلل الكلوكوز فيها لاهوائيا هي عملية شائعة بين الخمائر وان الكحول الاثيلي ليس الناتج الوحيد فيها ولكنه اكثرها نسبة . اما النواتج الاخرى والتي تتحرر بنسبة اقل بكثير من الكحول هي الكليسرول والاستالدهايد وكحولات عالية اخرى مثل البيوتانول والبروبانول وغيرها .

ان اغلب دراسات التخمر جرت على الخميرة سكارومايسس سرفيسي **Saccharomyces cerevisiae** كنموذج لذلك سنتتبع عملية التخمر وتحولاتها في هذه الخميرة ان تكوين الكحول الاثيلي من سكر الكلوكوز في خميرة سكارومايسس سرفيسي يكون طريق امدن مايرهوف بارناس وباختصار كما يلي (شكل ٦٢)

ان البايروفيت تجرى عليها عملية نزع جذر الكربوكسيل Decarboxylation وبمساعدة انزيم البايروفيت ديكاربوكسليز Pyruvate Decarboxlase والتي يتم فيها تحويل البايروفيت الى استالدهايد وان هذه الالدهايد تختزل وبمساعدة انزيم ديهايد روجينيز الكحول Alcohol Dehydrogenase وبواسطة مرافق الانزيم $NADH_2$ الى الكحول وكما موضح في (شكل ٦٣)



شكل (٦٢) تخمر الكلوكوز في خميرة سكارومايسس سرفيسي



شكل (٦٣) يوضح كيفية تخمر البايروفيت الى الكحول الاثيلي

ان اكسدة سكر الكلوكوز بوسطة الخميرة وتحت تكوين الكحول الاثيلي كناتج نهائي جرت تحت ظروف لاهوائية اي بعدم وجود الاوكسجين وبما ان هذه العمليات جميعها هي عمليات اكسدة واختزال لمركب عضوي لذلك يطلق عليها التخمر اللاهوائي وسيأتي ذكر ذلك لاحقاً .

ان تكوين الكحول الاثيلي في عملية تخمر سكر الكلوكوز عن طريق امدن مايرهوف بارناس هو الشكل الرئيسي للتخمر وقد يحصل احياناً ان يأخذ التخمر شكلاً آخراً يعتبر ثانوياً لكونه بلا فائدة للخلية نفسها لانه غير محرر للطاقة او غير مكون لجزيئات يمكن الاستفادة منها في عمليات بنائية وان مجمل هذه العملية هو :

$$C_6H_{12}O_6 \longrightarrow CH_3CHO + CO_2 + C_3H_8O_3$$

سكر الكلوكوز ⟵ استالدهايد + ثاني اوكسيد الكربون + كليسرول

ان هذا النوع من التخمر يحصل عند توقف عمل انزيم الديهايدروجينيز الكحولي وعدم تحرر NAD^+ عن طريق اختزال الاستالدهايد الى الكحول الاثيلي وذلك لأن جزيئتي البايروفيت قد تدخلان دورة الاحماض الثلاثية الكربوكسيل ولا تستمران في طريقة امدن مايرهوف بارناس ، فاذا دخلت جزيئتا البايروفيت في طريق الاكسدة الهوائية فسوف لاتتحرر جزيئتا الاستالدهايد وعند عدم توفر الاستالدهايد فسوف لن يتوفر مستلم الالكترونات المتحررة من $NADH_2$ والتي تكونت عند تحويل الكليسر الدهايد الثالث الفوسفات الى ثنائي فوسفات الكليسرول لذلك يعمل مركب فوسفات الاسيتون الثنائي الهيدروكسيل كعامل مستلم لتلك الالكترونات وعندها يتحول هذا المستلم الى الكليسرول الثالث الفوسفات وهذا يتحول بدوره الى الكليسرول بفقدانه جذر الفوسفات . تدعى عملية تحول التخمر عن طريق التخمر الكحولي الى طريق تكوين الكليسرول يتحول نيوبرك الثاني Neuberg's Second From of Fermentation اما التحول الاول لنيوبرك فهو الطريق الاول (التخمر الكحولي) . يمكن اجراء الطريق التخمري الثاني صناعياً وبصورة مقصودة وذلك بمفاعلة الاستالدهايد المتحررة مع عامل اختزال مثل السلفايت Sulfite كي لاتعمل كمستلم للالكترونات وتحول هذه الالكترونات الى فوسفات الاسيتون الثنائي الهيدروكسيل لتكوين الكليسرول . اما لماذ لايعمل المركب الاخير على استلام الالكترونات بدل الكليسر الدهايد وعند التخمر الكحولي (طريق نيوبرك الاول) الطبيعي . ان الاستالدهايد لها الفة Affinity على استلام الالكترونات اكثر من فوسفات الاسيتون الثنائي

الهيدروكسيل ، اما عند وجود السلفايت فأن الاستالدهايد تكون معقدا مع السلفايت ويكون الكليسرول الناتج الرئيس والاهم في هذا التخمر وكما يلي

$$C_6H_{12}O_6 + Sulfite \longrightarrow CH_3CHO + Sulfate + CO_2 + C_3H_8O_3$$

الكليسرول + ثاني اوكسيد الكربون + كبريتات ← سلفايت + سكر الكلوكوز

ان الكليسرول يمكن ايضا ان يتحرر بكميات عالية عن طريق آخر يدعى طريق نيوبرك الثالث للتخمر Neuberg's Third Form of Fermentation وذلك باجراء عمليات التخمر في وسط قاعدي وبواسطة طريق نيوبرك الثالث للتخمر تتحول الاستالدهايد الى حامض الاستيك (الخليك) ويمكن تلخيص هذا التفاعل كما يلي :

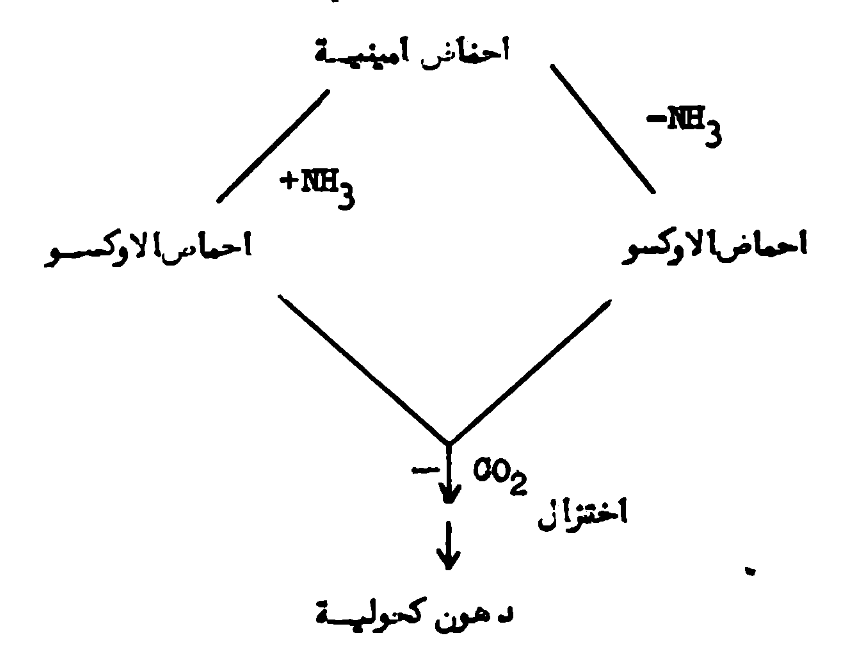
$$2C_6H_{12}O_6 + H_2O \longrightarrow 2CO_2 + CH_3COOH + C_2H_5OH + 2C_3H_8O_3$$

الكليسرول + كحول اثيلي + حامض الخليك + ثاني اوكسيد الكربون ← ماء سكر الكلوكوز

ان تفسير هذه الحالة هو تكون انزيم ديهايدروجينيز الالدهايد القاعدي الذي له فعالية فضلى في الظروف القاعدية التي نميت عليها الخمائر (pH 8.7) وهذا الانزيم يحول الاستالدهايد عن طريقها الطبيعي (تكوين الكحول الاثيلي) الى طريق آخر وهو تكوين حامض الخليك تحت ظروف خاصة بانعدام توفير مصدر نتروجين للخمائر فان تكوين الخلايا بكميات كبيرة يصبح مستحيلا لعدم تخليق البروتين والاحماض النووية وغير ذلك من المركبات التي تحتاج الى النتروجين لتخليقها فأن نواتج التخمر في هذه الحالة تدعى طريقة نيوبرك الرابعة للتخمر Neuiberg's Fourth Form Of Fermentation . ان تفسير هذه الظاهرة هو ان انزيم البايروفيت ديكاربوكسليز هو من النوع الذي يتم تحفيزه عند الحاجة فأن لم يتكون هذا الانزيم لقلة المصادر النتروجينية او عدم توفرها فأن التخمر يستمر لحين تكوين البايروفيت وان استعادة تكوين NAD^+ بواسطة استلام الالكترونات من قبل الاستالدهايد لن يكون ممكنا وسيأخذ التخمر الاشكال الاخرى وذلك بتحمل انزيم ثالث فوسفات الكليسرول ديهادروجينيز نيابة عن الانزيمات الاخرى باداء نشاط اكبر .

هناك نواتج اخرى للتخمر لابد من ذكرها هنا وهي ماتدعى بالدهونات الكحولية Fusel Oils وهي خليط من الكحولات العالية مثل البيوتانول والبروبانول وغيرها . يرتبط تكوين هذه الدهونات بصورة جزئية مع تفاعلات تكوين الاحماض الامينية ذات الفروع وذلك بعد ازالة جذر الامين منها لاعادة تكوين احماض الاوكسو (Oxo Acids). ان هذه الاحماض تتكون اصلا عند تمثيل

المركبات الكربوهيدرات وهذه الاحماض تجرى عليها عملية ازالة جذر الكربوكسيل وعملية اختزال لتكوين الدهون الكحولية وكالاتي :



ومثال على ذلك تكوين الايسوبيوتانول Isobutanol من عمليات تمثيل المركبات وكالاتي :

$CH_3-CO-COOH$ (بايروفيت) —استيل كواى→ $CH_3-C(OH)(COOH)-COCH_3$ (حامض الفا ـ استيولاكتيك) —تنظيم اختزالي→ $CH_3-C(CH_3)(OH)-HC(OH)COOH$ (٢، ٣ حامض ايسوفاليرك ثنائي الهيدروكسيل)

$\xrightarrow{-H_2O}$ $(CH_3)_2CH-CO-COOH$ (حامض الفاليريك ثنائي الاوكســو) $\xrightarrow{-CO_2}$ $(CH_3)_2CH-CHO$ (بيوتيريل) $\longrightarrow$ $(CH_3)_2CH-CH_2OH$ (ايسوبيوتانول)

ان التحكم في نوع وكمية ناتج التخمر يمكن اجراؤها بتغير مصدر النتروجين (مثل الاحماض الامينية او املاح الامونيوم) او بزرع الخمائر في بيئة لايتوفر فيها مصدر للنتروجين او بتغير الرقم الهيدروجيني في الزرع او في طبيعة الوسط الغذائي كتغير مصدر الكربوهيدرات وان تفاصيل هذه العمليات غير واقعة في مجال هذا الكتاب .

ان الخمائر قد لاتأخذ طريق امدن مايرهوف بارناس لوحده كطريق لاكسدة سكر الكلوكوز ولكن يمكن ان تؤكسد البعض من هذا السكر عن طريق السكر السداسي احادي الفوسفات (HMP) (الفصل السادس) . ان نواتج هذا الطريق هي ليست البايروفيت وبالتالي ليس الكحول الاثيلي ولكن السكر تأكسد كلياً الى ثاني اوكسيد الكربون موفراً قوة اختزالية تتمثل في ($NADPH_2$)

تنظيم عمليتي التنفس والتخمر في الخمائر

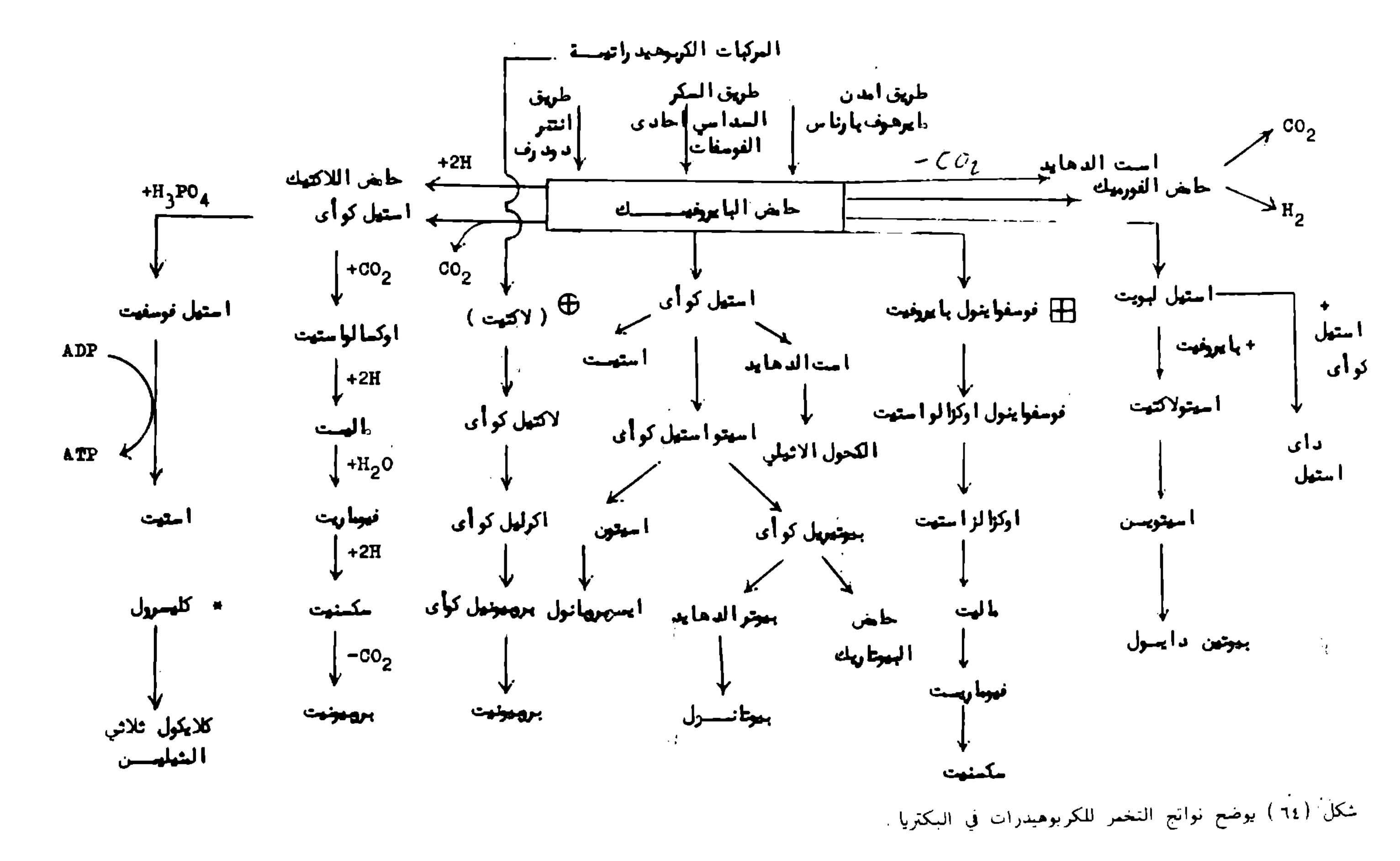
ان معظم الخمائر اختيارية من ناحية التنفس حيث تعتبر من الاحياء اللاهوائية الاختيارية وان معظمها يسلك طريق التخمر والذي فيه يكون مستلم الالكترونات النهائي مركبا عضويا وذلك عند توفر كميات وافية من سكر الكلوكوز ، فأذا نميت الخمائر في محيط يتوفر فيه الكلوكوز بكميات وفيرة وتحت ظروف هوائية (وهذه الظروف يطلق عليها في الصناعة بالتخمر الهوائي) فان عملية التنفس الهوائي وبعد بضع ساعات تظهر نوعا من التثبط وذلك بتأثير عملية التخمر الفسلجي وفي هذه الحالة تسلك الخميرة سلوكا وكانها نامية في بيئة او ظروف لاهوائية . ان هذه الحالة تأتي نتيجة لتغير في فعالية الانزيمات التي تعمل في دورة الاحماض ثلاثية الكربوكسيل (التنفس الهوائي) وسببها غير واضح . تحت هذه الظروف تكون نواتج التخمر للكحول الاثيلي ودهونات الفيوزل والكليسرول والقليل من حامض السكسنيك وذلك نتيجة لدخول البايروفيت في دورة الاحماض ثلاثية الكربوكسيل في بداية عملية التخمر . لذلك على الطالب ان يفرق بين عملية التخمر الفسلجي وهي عمليات الاكسدة والاختزال عندما يكون مستلم الالكترونات النهائي وهو مركبا عضويا وليس الاوكسجين وعملية التخمر الصناعي الهوائي التي تطلق على عملية تنمية الخميرة تحت ظروف هوائية .

التخمر في البكتريا

بعد التعرف على التفاعلات الكيمياوية الحياتية لعملية التخمر في البكتريا وعلى ان هذه العملية تجرى تحت ظروف لاهوائية بدأت الدراسات حول اوجه التشابه بينها وبين عملية التخمر (تخمر السكريات Glycolysis) في الانسجة الحيوانية . لقد اعتبرت العمليان متشابهتان بعد ماعرف ان المواد الوسط متشابهة

فيها واطلق بعض العلماء اسم (كلايكوليسس) على عملية تخمر المركبات الكربوهيدراتية في البكتريا واعتبرت الكلمتان التخمر والكلويكوليسس مترادفتان لقد اتضح بعد ذلك ان عملية تخمر الكربوهيدرات في البكتريا لاتحرر حامض اللاكتيك دائما كما يحدث في الانسجة الحيوانية اى في عملية الكلايكوليسس، فالبكتريا قد تحرر حامض اللاكتيك بصورة رئيسية نتيجة لتخمر المواد الكربوهيدراتية وهذه البكتريا تسمى متشابهة التخمر Homofermentative والاخرى تحرر خليطا من مركبات عضوية مثل حامض اللاكتيك والكحول الاثيلي وحامض الفورميك والخليك واطلق عليها المتغايرة التخمر Heterofermentative ولقد وجد ان متشابهة التخمر بعد تغير ظروف التخمر تكون مركبات عضوية مختلفة فمثلا في بيئة قاعدية فانها تكون حامض الفورميك والخليك والكحول الاثيلي ويقل تكون حامض اللاكتيك فيها . ان من اهم العوامل التي تسيطر على التغاير من نواتج التخمر هو العامل المختزل نيكوتين امايد ادنين الثنائي النيوكليوتايد $NADH_2$ وكمياته . ففي ظروف معينة يمنح هذا العامل الكتروناته الى حامض البايروفيك مختزلا اياه الى حامض اللاكتيك وتحت ظروف اكسدة واختزال اخرى وجهد تفاعل اعلى وبوجود مستلم آخر للالكترونات (مثل الاستالدهايد) فأن الالكترونات تمنح الى ذلك المستلم بدلا من حامض البايروفيك مما يؤدي الى تكون الكحول الاثيلي . وربما يتسائل البعض هل ان خليط المركبات العضوية المختلفة التي كونتها البكتريا متشابهة التخمر عند تغير ظروف بيئتها تنتج بنفس الطريق الذي تسلكه البكتريا المتغايرة التخمر لتكوين ذلك الخليط . وبعد دراسات عديدة باستعمال النظائر المشعة اتضح بأن متشابهة التخمر الحقيقية تخمر سكر الكلوكوز عن طريق امدن مايرهوف بارناس وانها تملك انزيم ترانس الدوليز Transaldolase بينما المتغايرة التخمر الحقيقية تسلك طريق السكر السداسي احادي الفوسفات وقد توجد بعض انواع البكتريا التي تسلك الطريقين وعلى ذلك نجد ان تخمر سكر الكلوكوز وتكوين حامض اللاكتيك او الكحول الاثيلي في متشابهة التخمر الحقيقية يأتي كنتيجة لتغاير سلوك البكتريا بعد تكون حامض البايروفيك وليس قبله حيث ان العمليتان سلكتا طريق امدن مايرهوف بارناس لتوليد حامض البايروفيك واختلفتا بعده . لذلك وفي هذا الفصل سنتتبع تخمر حامض البايروفيك ايا كان مصدره في البكتريا والاختلافات الحاصلة في نواتج التخمر . •

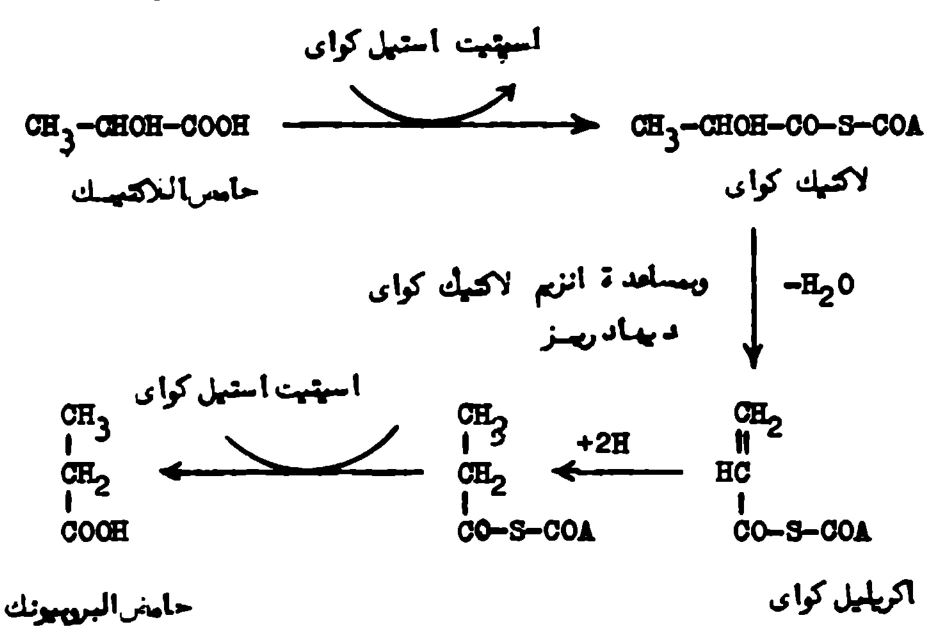
يتكون حامض البايروفيك نتيجة لتخمر المركبات الكربوهيدراتية عن طريق امدن مايرهوف بارناس او عن طريق السكر السداسي احادي الفوسفات او عن طريق اينتر دودروف وهذا الحامض قد يتخمر باحدى الطرق المبينة في الشكل (٦٤) مولدا بذلك نواتج مختلفة استعملت كواسطة لتصنيف البكتريا .



شكل (٦٤) يوضح نواتج التخمر للكربوهيدرات في البكتريا .

١ ـ التخمر المنتج لحامض البروبونيك

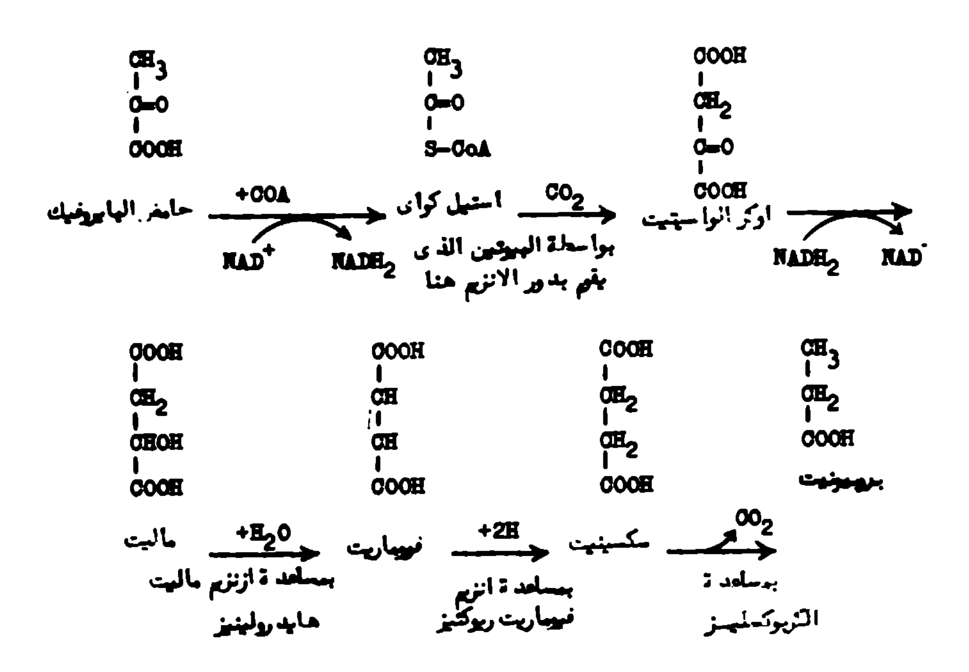
توجد انواع عديدة من البكتريا التي تنتمي لجنس بكتريا حامض البروبيونيك Propionibacterium وكـــذلـــك النوع فيلونيـــــلا كـــازوجنس Veillonella gazogenes وبعض انواع الجنس كلوستريديم Clostridium التي لها القدرة على تخمير المركبات الكربوهيدراتية الى حامض البروبيونك . ورغم ان حامض البروبيونك هو ناتج مشترك بين تخمر الكربوهيدرات لهذه الانواع ولكن طرق التخمر تختلف بين الجنس كلوستريديوم وجنس بكتريا حامض البروبيونك كما في الشكل (٦٥) . ففي الكلوستريديوم يتكون حامض البروبيونك من خلال ازالة جزئية ماء من حامض اللاكتيك وعن طريق لاكتيك كواى وكما يأتي :



شكل (٦٥) يبين تكوين حامض البروبيونك من اللاكتيك

ان هذا النوع من التخمر يحدث في النوع كلوستريديوم بروبيونكم Clostridium-propionicum وتوجد اثباتات على حدوثه في النوع بكتريودس رمنيكولا Bacteroides rumnicola وفي ببتوستربتو كوكس السدناي Peptostrepto-coccus elsdenii ايضا .

ان البعض من حامض اللاكتيك يتحلل الى الاسيتيك وثاني اوكسيد الكربون والهيدروجين ويستخدم الاخير في اختزال الاكرليل كواي الى بروبيونيل كواى . لذلك فأن مجمل التفاعل سيكون بتكوين حامض البروبيونك والاسيتيك وثاني اوكسيد الكربون . اما في البكتريا التي تنتمي الى بكتريا حامض البروم البروبيونيك وفيلونيلا فان حامض البروبيونك يتولد نتيجة لتخمر الكربوهيدرات عن طريق آخر غير الطريق الذي سلكته الكلوستريديا واكثر تعقيداً منه . هذا النوع من التخمر يتولد حامض الخليك ولكن بنسبة اعلى من نسبته في التخمر الذي ولدته الكلوستريديا كما ويتحرر غاز ثاني اوكسيد الكربون . ان هذه النسبة العالية من حامض الاسيتيك جعلت الدراسات على هذا النوع من التخمر تتوسع وتم التوصل اليه بواسطة النظائر المشعة لمعرفة وجود كميات لابأس بها من حامض السكسنك وان هذا الحامض يتولد نتيجة تثبيت ثاني اوكسيد الكربون على البايروفيت لتكوين اوكز الواسيتيت وان حامض السكسينك يتولد عن طريق دورة الاحماض الثلاثية الكربوكسيل وكالاتي :



ان جزءاً من حامض البايروفيك يتحول لتكوين حامض الاسيتيك وغاز ثاني اوكسيد الكربون كما يلي :

$$\begin{matrix} CH_3 \\ | \\ C=O \\ | \\ COOH \end{matrix}$$

حامض البروفيك + NAD^+ + CoA ← بمساعدة انزيم باروفيت ديهايدروجينيز

$$\begin{matrix} CH_3 \\ | \\ C=O \\ | \\ S-CoA \end{matrix}$$

استيل كواي + CO_2 + NADH + H^+ ← (H_3PO_4) بمساعدة انزيم اورثوفوسفيت استيل ترانزفريز ← استيل فوسفيت

$$\begin{matrix} CH_3 \\ | \\ C-OP_3^- \end{matrix} + CoA$$

← (ADP ← ATP) فوسفو ترانزفريز

$$\begin{matrix} CH_3 \\ | \\ COOH \end{matrix}$$

حامض الاستيك

يوجد بعض من البكتريا مثل فيلونيلا Veillonella وسيلينوموناس Selenomonas اللذان لايخمرا سكر الكلوكوز ولكن يخمران سكر اللاكتوز . في حالة مثل هذه يتأكسد سكر اللاكتوز الى البايروفيت اولا ثم تتخمر البايروفيت كما هو واضح من المعادلة السابقة .

ان بكتريا حامض البروبيونك مسؤولة عن الطعم الحاد في الجبن السويسري وهي تنمو بصورة ثانوية بعد بكتريا حامض اللاكتيك وتحول هذا الحامض الى البروبيونك والاسيتيك وتولد كميات لابأس بها من غاز ثاني اوكسيد الكربون والتي تسبب تثقب هذا النوع من الجبن اما كيفية وصول بكتريا حامض البروبيونك الى الجبن فذلك عن طريق الانزيم رنين المستخلص من معدة الابقار والذي تحتاجه عملية صناعية الجبن وتوجد هذه البكتريا بصورة طبيعية في معدة الابقار كجزء من الميكروفلورا .

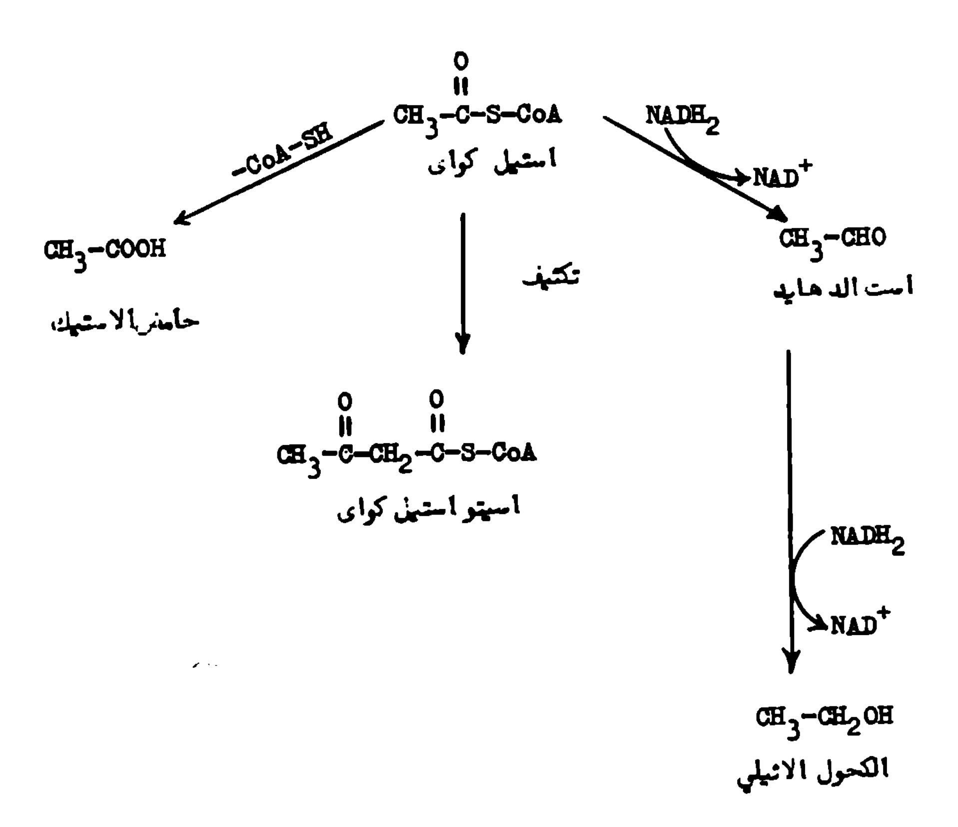
٢ ـ التخمر المنتج لحامض البيوتاريك والمذيبات

توجد انواع من البكتريا اللاهوائية المكونة للسبورات التي تنتمي الى الجنس كلوستريديوم Clostridium ومن البكتريا اللاهوائية غير المكونة للسبورات التي تنتمي لجنس بكتريا حامض البيوتريك Butyribactrium والتي لها القدرة على تخمير المركبات الكربوهيدراتية . ان بكتريا الكلوستريديا لها القدرة عادة على تحليل المركبات البروتينية ، لكن التي تحلل الكربوهيدرات تكون ضعيفة في قدرتها على تحليل البروتين ويطلق عليها الكلوستريديا المحللة للسكريات Saccharolytic. ان من نواتج تخمر الكربوهيدرات في بكتريا كلوستريديوم وبكتريا حامض البروبيونك هي حامض البيوتيرك والبيوتانول والاسيتون والايسوبروبانول والكحول الاثيلي وحامض الاسيتيك اضافة الى غازي الهيدروجين وثاني اوكسيد الكربون . يتم التخمر عن طريق امدن مايرهوف بارناس لتكوين البايروفيت تنقسم هذه البايروفيت الى استيل كواي وثاني اوكسيد الكربون والهيدروجين كالاتي :

$$CH_3-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-COOH + CoA-SH \longrightarrow CH_3-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-S-CoA + CO_2 + H_2$$

حامض البايروفيك   استيل كواي

اما اختلاف ت نواتج التخمر فيكون نتيجة لاختلاف طرق تخمر الاستيل كواي هذه . يتكثف جزء من الاستيل كواي لتكوين اسيتواستيل كواي وجزء اخر يختزل الى الاست الدهايد ثم الى الكحول الاثيلي وجزءاً اخر يتحول لحامض الاستيك وكالاتي



اما الاستيواستيل كواي المتكونة من تكثيف جزيئتين من الاستيل كواي فتختزل الى بيوتيريل كواي وهذه اما ان تتحول الى حامض البيوتريك او تختزل الى بيوتر الدهايد ثم الى البيوتانول وكالاتي :

$$CH_3-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-CH_2-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-S-CoA$$

استيوا سيتيل كواي

$NADH_2 \rightarrow NAD^+$

$$CH_3-\underset{H}{\overset{OH}{\overset{|}{C}}}-CH_2-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-S-CoA$$

بيتاهدروكسيبيوتريل كواي

$-H_2O$

$$CH_3-CH=CH-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-S-CoA$$

كروتونيل كواي

$NADH_2 \rightarrow NAD^+$

$$CH_3-CH_2-CH_2-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-S-CoA$$

بيوتيريل كواي

NAD^+ $NADH_2$

$$CH_3CH_2-CH_2-CHO$$

بيوتر الدهايد

$NADH_2 \rightarrow NAD^+$

$$CH_3-CH_2-CH_2-CH_2OH$$

بيوتانول

$-CoA-S$

$$CH_3-CH_2-CH_2-COOH$$

حامض البيوتيريك

ان بعض انواع الكلوستردیا المحللة للسكريات يمكنها تكوين الاسيتون وبنفس الوقت تحول حامض البيوتاريك الى البيوتانول فمثلا كلوستردیوم اسيتوبيوتكلم **Colstridium-acetobutylicum** لها القدرة على تحويل الاسيتواستيل كواي الى الاسيتواستيت وذلك بتفاعلها مع حامض الاستيك وكالاتي

$$CH_3-C(=O)-CH_2-C(=O)-S\text{-}CoA + CH_3COOH \longrightarrow CH_3-C(=O)-CH_2-COO^- + CH_3-C(=O)-S\text{-}CoA$$

اسيتواستيل كواى — اسيتواستيت — استيل كواى

بعد ذلك وبواسطة انزيم اسيتواستيت ديكاربوكسليز يزال جذر الكربوكسيل من الاسيتواستيت ويتم تحويلها الى الاسيتون كالاتي :

$$CH_3-C(=O)-CH_2-COO^- \longrightarrow CH_3-C(=O)-CH_3 + CO_2$$

اسيتواستيت

اما الايسوبروبانول فهو يتكون فقط في بكتريا كلوستردیوم بيوتيليكم **Clostridium-butylicum** حيث تتمكن هذه البكتريا من اختزال الى ايسوبروبانول بواسطة انزيم ديهايدروجينيز كالاتي :

$$CH_3-C(=O)-CH_3 \xrightarrow{NADH_2 \;\rightarrow\; NAD^+} CH_3-CHOH-CH_3$$

ايسوبروبانــــول

يلاحظ مما تقدم من التفاعلات ان التوازن بين الاكسدة والاختزال مهم جدا ويتم عن طريق الهيدروجين الجزيئي الذي يحمل على حامل يدعى فيريدوكسين (Ferridoxin) والذي يوجد عادة في البكتريا اللاهوائية المفطرة كالكلوستردريا والبيوتيريباكتريوم . تختلف نواتج التخمر تبع هذا التوازن فعند توفر عامل الاختزال تتحول النواتج الحامضية الى نواتج متعادلة مثل البيوتانول والاسيتون والايسوبروبانول والكحول الاثيلي . ان بعض الكلوستردريا المحللة للسكريات مثل كلوستريديوم برفرنجنز لها القدرة على اختزال البايروفيت بواسطة انزيم ديهايدروجينيز وفي وسط فيه قليل من الحديد الى اللاكتيت ، وهناك نوع اخر من الكلوستردريا هي كلورستردريوم كلايفري **Clostridium kluyveri** والتي لها القدرة على تخمر الكربوهيدرات مكونة حامض السكسنك كناتج اساسي وذلك عن طريق البايروفيت ثم الاستيل كوأي ايضا ويعقب ذلك سلسلة من التفاعلات تختلف عن التفاعلات في معظم البكتريا الاخرى التي تكون السكسنيت عن طريق الكلايوكزاليت (راجع الفصل السادس) .

ثالثا : التخمرات التي تنتج خليطا من الاحماض والبيوتين دايول .

افراد بكتريا العائلة المعوية وبكتريا اخرى سالبة لصبغة غرام التي تخمر السكريات تنتج خليطا في الاحماض العضوية ومركبات اخرى غيرها . تستعمل نواتج التخمر هذه وخاصة في العائلة المعوية في تصنيف افراد هذه العائلة فيما بينهم وبصورة عامة يمكن تقسيم هؤلاء الافراد الى المجاميع التالية .

١ ـ المجموعة المنتجة لخليط من الاحماض العضوية وهذه تكون موجبة في اختبار المثيل الاحمر وسالبة في اختبار فوكاس بروسكاور .

٢ ـ المجموعة المنتجة للبيوتين دايول وهذه تكون سالبة في اختبار المثيل الاحمر وموجبة في اختبار فوكاس بروسكاور .

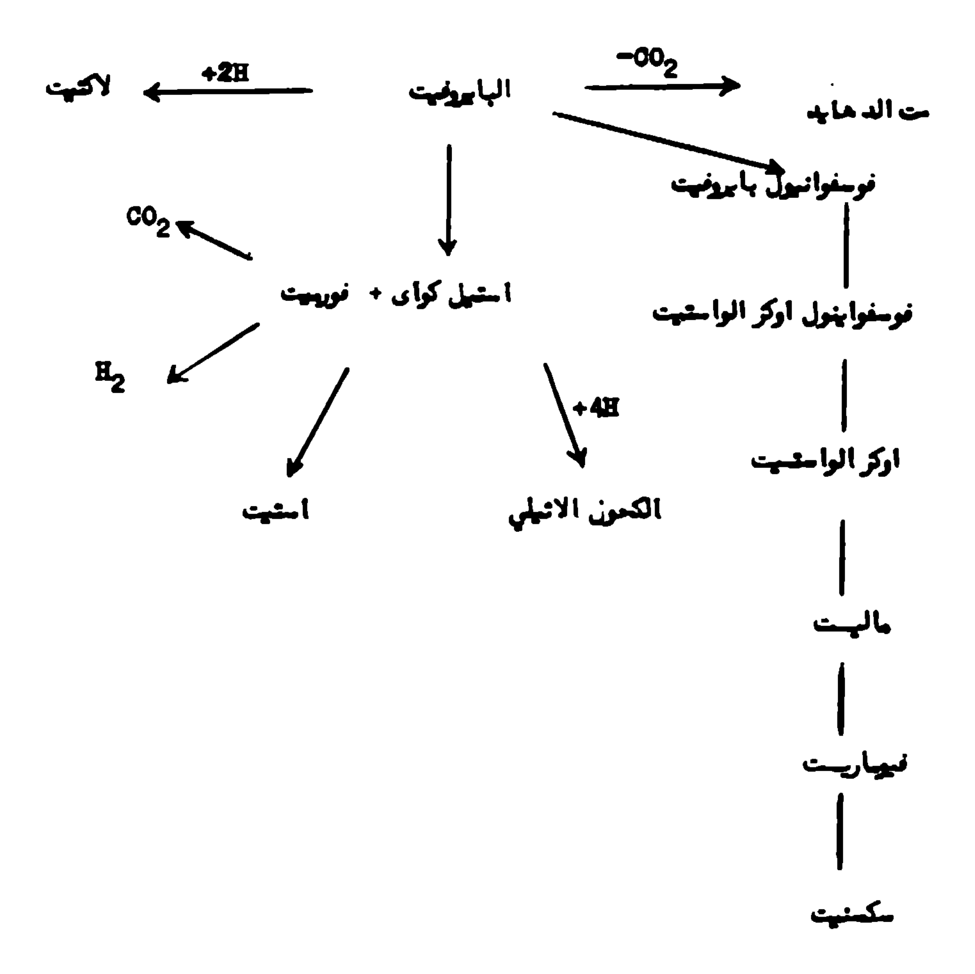
٣ ـ المجموعة المنتجة لكلايكول ثلاثي المثيلين

وهناك بعض الافراد الشاذة نوعاما والتي تقع بين المجموعتين الاولى والثانية من العائلة المعوية فهي موجبة لاختباري المثيل الاحمر وفوكاس بروسكاور .

ان الاختلافات في نواتج تخمر السكريات بين افراد العائلة المعوية تقع في طرق تخمرها لحامض البايروفيك الذي يتكون اما عن طريق السكر السداسي احادي الفوسفات او عن طريق امدن مايرهوف بارناسي لذلك سنتتبع هذه الاختلافات مبتدئين بالبايروفيت .

١ ـ المجموعة المنتجة لخليط الاحماض في العائلة المعوية

ينتمي الى هذه المجموعة العديد من اجناس العائلة المعوية مثل الجنس اشرشيا (Escherichia) والسالمونيلا (Salmonella) والشيكللا (Shigella) والبروتيس (Proteus) واليارسينيا (Yersinia) وهذه البكتريا اذا اتبعت النظام في الشكل (٦٦) التالي لوحده فستكون نواتج التخمر حامض اللاكتيك والاستيك والسكسنك والفورميك (او ثاني اوكسيد الكربون والهيدروجين) والكحول الاثيلي .



شكل (٦٦) يوضح تخمر البايروفيت بواسطة افراد عائلة البكتريا المعوية المنتجة لخليط الاحماض العضوية .

من الشكل (٦٦) يتبين ان حامض الفورميك يتحلل اما جزئيا او كليا الى غازي ثاني اوكسيد الكربون والهيدروجين . بما ان غاز ثاني اوكسيد الكربون قد يتحرر من مصادر اخرى غير حامض الفورميك او قد يستهلك في تفاعلات اخرى لذلك لايمكن الاعتماد على تقدير كمياته كوسيلة لمعرفة كمية حامض الفورميك المتحلل . اما الهيدروجين فيمكن قياس كميته واستعمالها كوسيلة لمعرفة مدى تحلل حامض الفورميك لان هذا الحامض هو المصدر الوحيد لغاز الهيدروجين في هذا النوع من التخمر . كما ويمكن تقدير جزيئات (مول) حامض الفورميك الكلية من جمع كمية جزيئات الحامض المتبقية مع كمية جزيئات الهيدروجين وذلك لان كل (مول) من الهيدروجين يتحرر من تحلل مول واحد من حامض الفورميك ان احد نواتج هذا التخمر هو الاست الدهايد وهذه تتكون بأحد الطرق الثلاث التالية .

أ ـ من ازالة جذر الكربوكسيل من البايروفيت وبواسطة انزيم بايروفيت ديكاربوكسليز .

ب ـ من انقسام البايروفيت بطريقة مشابهة لما يحصل في الكلوستريديا ولكن بتحرر الفورميت ايضا بدلا من تحللها الى ثاني اوكسيد الكربون وهيدروجين ان هذا الطريق يؤدي الى تكوين الاستيل كوأي وذلك لحاجة التفاعل الى الكواي او تكوين فوسفات الاستيل لحاجة التفاعل الى الفوسفات غير العضوية ايضا ولكن الاستيل كواي وفوسفات الاستيل تبقيان بصورة متوازنة ويمكن تحول احداهما الى الاخرى بواسطة انزيم فوسفيت استيل ترانسفريز . اما الاست الدهايد فتتكون من اختزال الاستيل كوأي بواسطة انزيم الالدهايد ديهايدروجينيز كما يلي

$$\underset{\text{(حامض البايروفيك)}}{CH_3-CO-COOH} \xrightarrow[\text{Pi ، عوامل أخرى مرافقة للانزيم}]{+CoA-SH} \underset{\text{(حامض الفورميك)}}{HCOOH} + \underset{\text{(استيل كواى)}}{CH_3-CO-S-CoA} \xrightarrow{NADH_2 \rightarrow NAD^+} CH_3CHO + CoA-SH$$

$$\underset{\text{(استيل كواى)}}{CH_3-CO-S-CoA} \rightleftharpoons \underset{\text{(فوسفات الاستيل)}}{CH_3-CO-Ⓟ}$$

جـ ـ من الاستيت في الانواع التي تكونها وذلك باختزال الاستيت بواسطة انزيم الدهايد ديهايدروجينيز يختلف عن الاول .

$$CH_3{-}COOH \xrightarrow{NADH_2 \rightarrow NAD^+} CH_3{-}CHO + H_2O$$

استيت ———— است الدهايد

اما الكحول الاثيلي فيتكون من اختزال الاست الدهايد بواسطة انزيم الكحول ديهايدروجينيز وبوجود عوامل مرافقة له .

اضافة الى حامض الفورميك والاست الهايد والكحول الاثيلي فأن هذا النوع من التخمر ينتج الاستيت وهذه تتكون بأحد الطرق الاربعة التالية :

أ ـ عن طريق اكسدة البايروفيت وبمساعدة انزيم بايروفيت اوكسديز

$$CH_3{-}\overset{O}{\overset{\|}{C}}{-}COOH \longrightarrow CH_3COOH + CO_2$$

حامض البايروفيك ———— حامض الاستيك

ب ـ باضافة جزيئة ماء للاستيل كوأي بواسطة انزيم الاستيل كوأي هايدروليز وكالاتي

$$CH_3{-}C(=O){-}S{-}CoA + H_2O \longrightarrow CH_3{-}COOH + HS{-}CoA$$

استيل كوأى ———— حامض الاستيك ———— كوأى

جـ - عند وجود انزيم مكون للاستيل كوأي (acetyl CoA syuthetase) يتم تحويل الاستيل كوأي الى خلات .

$$\begin{matrix} CH_3 \\ | \\ C{=}O \\ | \\ S{-}CoA \end{matrix} + AMP + Pi \longrightarrow \begin{matrix} CH_3 \\ | \\ COOH \end{matrix} + ATP + HS{-}CoA$$

د - عند وجود الفوسفات اللاعضوية وانزيم الفوسفيت استيل ترانسفريز واستيت كاينيز يتم تحويل الاستيل كوأي الى استيت

$$\begin{matrix} CH_3 \\ | \\ C{=}O \\ | \\ S{-}CoA \end{matrix} + Pi \longrightarrow \begin{matrix} CH_3 \\ | \\ C{=}O \\ | \\ Po_3^- \end{matrix} \xrightarrow{ADP \to ATP} CH_3COOH$$

استيل فوسفيت **حامض الاستيك**

من نواتج هذا التخمر ايضا غازي ثاني اوكسيد الكربون والهيدروجين حيث يختلف افراد عائلة البكتريا المعوية في القدرة على تحرير هذين الغازين من حامض الفورميك ولكنهم يشتركون بتكوين هذا الحامض . فمثلا في الايشريشيا كولاي يوجد نظام انزيمي يطلق عليه فورميك هيدروجين ليز وهو المسؤول عن انقسام حامض الفورميك وتحرير الغازين . اما البكتريا التي ليست لها القدرة على تقسيم حامض الفورميك مثل السالمونيللا تايفي **Salmonella typhi** والشيكللا **Shigella** وبروتيس ريتجرى **Proteus rettgeri** وسراشيا مار سسنز **Serratia marcescens** فأن هذا الحامض يبقى كاحد نواتج تخمر الكربوهيدرات فيها .
تختلف البكتريا المعوية عن الكلوستردبا بعدم وجود الفيريدوكسين (Ferridoxin) وبذلك تختلف البكتريا اللاهوائية المضطرة مثل الكلوستردبا عن البكتريا اللاهوائية الاختيارية كالبكتريا المعوية .

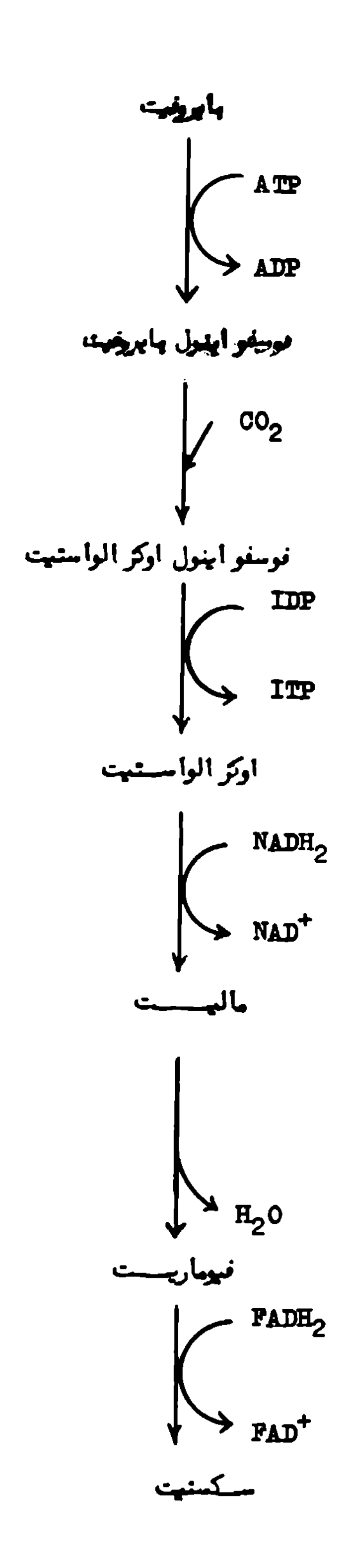
من نواتج هذا التخمر ايضا هو حامض السكسنك الذي كان ايضا احد المركبات التي تتكون عن طريق التنفس الهوائي (راجع دورة الاحماض ثلاثية الكربوكسيل في الفصل السادس) . ان البكتريا المعوية لها القدرة على تكوين هذا

الحامض كناتج للتخمر وذلك عن طريق اخر وتحت ظروف لاهوائية . ان هذا الطريق يختلف عن الطريق الذي تتبعه البكتريا اللاهوائية المضطرة مثل الكلوستردديا والذي سبق ذكرها في هذا الفصل . ففي البكتريا المعوية تتم فسفرة البايروفيت وتحويلها الى فوسفو اينول بايروفيت وبمساعدة انزيم متخصص يدعى مكون فوسفو اينول بايروفيت (phospho enolpyruvate synthetase)بعد ذلك .

$$\underset{\text{حامض البايروفيك}}{CH_3-C(=O)-COOH} \xrightarrow[\quad]{ATP \;\rightarrow\; AMP+Pi} \underset{\text{فوسفو اينول بايروفيت}}{CH_3-C(-O\sim P)-COOH} \xrightarrow{+CO_2} \underset{\text{فوسفو اينول اوكزالو استيت}}{COOH-CH_2-C(-O\sim P)-COOH}$$

فوسفو اينول اوكزالو استيت فوسفو اينول بايروفيت حامض البايروفيـــك

يتم تكوين الفوسفو اينول اوكزالو استيت باضافة ثاني اوكسيد الكربون وبمساعدة انزيم كاربوكسليز متخصص ثم يتم نقل جذر الفوسفات الى الاينوسين ثنائية الفوسفات (Inosindiphosphate, IDP) وتحرير اوكزالو استيت وهذه يتم تحويلها الى السكسنيت عن طريق مماثل لما يحدث في دورة الاحماض ثلاثية الكربوكسيل وذلك بتكوين الماليت والفيوماريت كمركبات وسط . يمكن اختصار عملية تكوين السكسنيت في البكتريا المعوية كما يلي :


پایروفیت
ATP
ADP
فوسفو اینول پایروفیت
CO_2
فوسفو اینول اوکز الواستیت
IDP
ITP
اوکز الواستیت
$NADH_2$
NAD^+
مالیت
H_2O
فیوماریت
$FADH_2$
FAD^+
سکسنیت

ان البكتريا المخمرة للكربوهيدرات والتي تنتج خليط الاحماض لها القدرة ايضا على اختزال حامض البايروفيك الى حامض اللاكتيك وبذلك يتم تحويل كميات لابأس بها في حامض البايروفيك الى اللاكتيك وكالاتي :

$$\underset{\text{حامض البايروفيك}}{\begin{matrix} CH_3 \\ | \\ C{=}O \\ | \\ COOH \end{matrix}} \xrightarrow{NADH_2 \;\curvearrowright\; NAD^+} \underset{\text{حامض اللاكتيك}}{\begin{matrix} CH_3 \\ | \\ CHOH \\ | \\ COOH \end{matrix}}$$

ان كمية حامض اللاكتيك المتكونة تتبع الظروف البيئية التي تنمو فيها البكتريا فقد يتكون بكميات تساوي تحول نصف كميات البايروفيت الموجودة كما يحدث في بكتريا سرا شياكيلنسس **Serratia kielensis** او قد لايتكون بالمرة كما في بكتريا ايروباكتر ايروجنس **Aerobacter aerogenes** .

٢ ـ المجموعة المنتجة للبيوتين دايول

توجد مجموعة من افراد العائلة المعوية مثل الايروباكتر (Aerobacter) سراشيا (Serratia) اروينيا (Erwinia) وافراد من الجنسين باسلس ((Bacillus)) وايروموناس (Aeromonsa) لها القدرة على تكوين البيوتين دايول من حامض البايروفيك اضافة الى خليط الاحماض حيث يستعمل هذا الناتج كواسطة لتصنيف الافراد التي تكونه . ان كمية الاحماض التي تكونها هذه المجموعة من البكتريا اقل من المجموعة الاولى وذلك لان البيوتين دايول ناتج متعادل يتكون عند اختزال جزيئتين من حامض البايروفيك بواسطة ذرتين من الهيدروجين توفرها جزيئة واحدة فقط من النيكوتين امايد ادنين ثنائي النيوكليوتايد المختزل ($NADH_2$) ولغرض الحفاظ على التوازن في عوامل الاكسدة والاختزال فأن العملية تتطلب تحول الاستيل كوأي او فوسفات الاستيل (راجع المجموعة الاولى) الى الكحول الاثيلي وهذا يؤدي الى نقـــص في حامض الاستيك وبالتالي الى نقص في كمية الحامض النهائي . ان تكوين البيوتين دايول يعتمد بصورة اولية على الرقم الهيدروجيني في الوسط الزرعي ففي محيط له رقم هيدروجيني اعلى من ٦,٣ لايتكون فيه هذا المركب ولكنه يتكون عند انخفاض الرقم الى اقل من ذلك ان البيوتين دايول يتحرر من اختزال كحول يدعى اسيتوين (Acetoin) (استيل

مثيل كاربنول) وذلك بواسطة نيكوتين امايد ثنائي النيوكليوتايد ($NADH_2$) .

تختلف طرق تكوين الاسيتوين في البكتريا فمثلا في بكتريا ايروباكتر ايروجنس (A. aerogenes) وبـــــــــاسلس ستلس (B.subtilis) وكلوستريديوم اسيتوبيوتيلكم (C.acetobutylicum) وستربتوكوكاس فيكالس S.faecalis يتكون الاسيتوين عن طريق الاسيتولاكتيت اما في البكتريا التي تمتلك انزيمات متخصصة لتخمر البايروفيت عن طريق خليط الاحماض اضافة الى الانزيمات الخاصة بتكوين الاسيتوين من اختزال الاستيل الثنائي (داي استيل) .

ان تكوين الاسيتوين عن طريق الاسيتولاكتيت يكون بتخليق استيت فعالة (Activated Acetate) وهي الاستيل لبويت من البايروفيت كالاتي

$$\begin{matrix} CH_3 \\ | \\ C{=}O \\ | \\ COO^- \end{matrix} \quad + \quad \text{Lipoate} \longrightarrow \begin{matrix} CH_3 \\ | \\ C{=}O \\ | \\ \text{lipoate} \end{matrix} \quad + CO_2$$

بايروفيت   لبويت   استيل لبويت (استيت فعالة)

ان هذه الاستيت الفعالة لها القدرة على التفاعل مع جزيئة اخرى من البايروفيت لتكوين اسيتولاكتيت كالاتي

$$\begin{matrix} CH_3 \\ | \\ C{=}O \\ | \\ \text{lipoate} \end{matrix} \; + \; \begin{matrix} CH_3 \\ | \\ C{=}O \\ | \\ COOH \end{matrix} \longrightarrow \begin{matrix} CH_3 \\ | \\ HOC{-}COO^- \\ | \\ C{=}O \\ | \\ CH_3 \end{matrix} \; + \text{lipoate}$$

استيل لبويت   بايروفيت   اسيتولاكتيت   لبويت

وبفعل انزيم ديكاربوكسليز متخصص يتم ازالة جذر الكربوكسيل ن من الاسيتولاكتيت وتحويلها الى الاسيتوين

$$\underset{\text{اسيتولاكتيت}}{HO-\overset{\overset{CH_3}{|}}{\underset{\underset{\underset{CH_3}{|}}{C=O}}{|}}{C}-COO^-} \longrightarrow \underset{\text{اسيتوين}}{H-\overset{\overset{CH_3}{|}}{\underset{\underset{\underset{CH_3}{|}}{C=O}}{|}}{C}-OH} + CO_2$$

اما الطريقة الثانية لتكوين الاسيتون فتحصل بتفاعل جزيئتين من الاستيت الفعالة احدهما الاستيل لبويت والاخرى الاستيل كواي لتكوين مركب يدعى الاستيل الثنائي (داي استيل) كالاتي :

$$\underset{\text{استيل لبويت}}{\overset{\overset{CH_3}{|}}{\underset{\underset{\text{lipoate}}{|}}{C=O}}} + \underset{\text{استيل كواى}}{\overset{\overset{CH_3}{|}}{\underset{\underset{S-CoA}{|}}{C=O}}} \longrightarrow \underset{\text{داى استيل}}{\overset{\overset{CH_3}{|}}{\underset{\underset{\underset{\underset{CH_3}{|}}{C=O}}{|}}{C=O}}} + \text{لبويت} + \text{استيل كواى}$$

$$\Big\downarrow \; NADH_2 \rightarrow NAD^+$$

$$\underset{\text{اسيتوين}}{\overset{\overset{CH_3}{|}}{\underset{\underset{\underset{\underset{CH_3}{|}}{C=O}}{|}}{CHOH}}}$$

٣ ـ المجموعة المنتجة للكلايكول ثلاثي المثيلين (ترايمثيلين كلايكول)

يمكن تكوين الكلايكول ثلاثي المثيلين من اختزال الكليسرول وذلك في افراد من العائلة المعوية مثل الايروباكتر ايروجنس A.aerogenes وستروباكتر فرونداي Citrobacter freundii . يتم اولا ازالة جزيئة ماء من الكليسرول وتحويله الى بيتا هيدروكسي بروبيون الدهايد يتم اختزال الاخير الى الكلايكول ثلاثي المثيلين ويتوقف تكوين الكحول الاثيلي كالاتي :

$$\begin{matrix} CH_2OH \\ | \\ CHOH \\ | \\ CH_2OH \end{matrix} \xrightarrow{\quad -H_2O \quad} \begin{matrix} CH_3 \\ | \\ CHOH \\ | \\ CHO \end{matrix} \xrightarrow{\quad NADH_2 \;\to\; NAD^+ \quad} \begin{matrix} CH_2OH \\ | \\ CH_2 \\ | \\ CH_2OH \end{matrix}$$

كليســــــرول　　　بيتا هيد روكسي بروبيون الد هايــد　　　كلايكول ثلاثـي المثيلين

التخمر في الفطريات

توجد بعض الانواع من العفن (Molds) والتي تلعب دوراً مهما في الصناعة خاصة في انتاج بعض المركبات العضوية التي تستخدم كأطعمة وفي انتاج الادوية . وبما ان معظم هذه العمليات تجري تحت ظروف هوائية لذلك تعتبر خارج مجال موضوع التخمر ويمكن الرجوع الى هذه النواتج في كتب الاحياء المجهرية الصناعية .

الفصل التاسع
نواتج التخمر

مقدمة :

تمتلك الاحياء المجهرية قدرات وامكانات واسعة لايمكن الاستهانة بها فالاجسام الدقيقة التي لايزيد عدد خلاياها عن الخلية الواحدة في معظم الاحيان لها طاقات قد تفوق ماهو موجود في الاجسام المتعددة الخلايا فالاحياء الدقيقة قادرة على صنع تراكيب اجسامها من مواد بسيطة قد لاتتعدى عند بعض هذه الاحياء على عدد من الغازات المتوفرة في الطبيعة ، والماء وذلك بتسخير طاقة كونية لاغراضها بغية تكوين تلك التراكيب . ويمكن اعتبار هذه الاحياء الدقيقة مصانع مصغرة بما فيها العمال والادارة . تستمد هذه المصانع موادها الاولية من بيئتها وان تنوع تلك المواد وتنوع سلوك هذه الاحياء المجهرية يؤدي الى تنوع انتاج هذه المعامل . يمكن في الكثير من الاحيان تغير انتاج مصنع ما بجهد بسيط وذلك بتغير تراكيز المواد الاولية او باحداث بعض التغييرات الكيمياوية او حتى الفيزياوية البسيطة فيها .

علم الانسان باضافة الخمائر مثلا الى عجينة الخبز قبل ان يتعرف على الخميرة او يعلم بأنها خلية حية وقام بصناعة (retting) الجوت والخمور والخل ومختلف المنتوجات الغذائية المخمرة قبل ان يعلم علاقة الاحياء الدقيقة بهذه العمليات . كما وان الانسان لم يكن يعلم او كان فهمه قليلا بالعمليات الكيميائية التي تدخل في تلك الصناعات . ولكن بعد اكتشاف المجهر في القرن السابع عشر وايجاد العلاقة بين الاحياء الدقيقة وبعض عمليات التخمر بدأ بتسخير تلك المصانع الصغيرة واستغلالها في صناعة منتوج معين لاستعمالاته الخاصة . ان استغلال الانسان لهذه المصانع الصغيرة يمكن تشبيهه باستغلال الشعوب للايدي العاملة الرخيصة الاجر اما الآت المعمل فهي متوفرة في تلك الخلية الدقيقة حيث توجد فيها الانزيمات التي تقوم بعملية تحوير المواد الاولية المتوفرة الى الاغراض المطلوبة وبتوجيه من الادارة (المواد الوراثية في الخلية) بقي على الانسان توفير المواد الاولية لذلك المعمل الصغير واول مابدأ به هو تشغيل المعمل على مواد اولية طبيعية مثل سكريات الفواكه والعسل للحصول على منتوج معين . ونظراً لتعدد المواد الاولية التي يمكن توفرها في الطبيعة ونظراً لقدرة تلك الاحياء الدقيقة لتغيير سلوكها

كانت المنتوجات التي حصل عليها الانسان من هذه الصناعات كثيرة وبدأ الانسان يتفنن حتى في تحسين تلك الصناعات ففكر اولاً في العامل فمنهم الفني ومنهم غير الفني فالعامل الفني او الاله المحسنة هي الانزيم الذي اجرى الانسان عليه بعض الطفرات الوراثية وحسن اداء عمله لمنتوج معين . وفي هذه الحالة يمكن تحسين آلة واحدة فقط في خلية واحدة والحصول على ملايين من هذه الالات المحسنة او الايادي العاملة الفنية خلال ساعات نمو قليلة لهذه الاحياء المجهرية .

بدأ الانسان ايضاً بالاقتصاد ففكر في الحصول على مواد اولية رخيصة الثمن وتحويلها الى منتوج غالي الثمن بغية الربح الكثير ولذلك بدأ بتطوير معامله فمعاملة الاحياء المجهرية الناجحة صناعياً هي الخلايا التي تستطيع ان تحول مواد اولية رخيصة الثمن الى منتوج مطلوب وغالي الثمن . وانواع المعامل هذه يمكن تقسيمها الى قسمين رئيسيين الاول يعتمد على بدائية النواة كالبكتريا والاخر على حقيقية النواة كالخمائر والعفن . اما العمليات الصناعية فقد تحدث تحت ظروف هوائية او لاهوائية وجميع هذه العمليات يطلق عليها (التخمر الصناعي) اي بمعنى آخر ان العمليات الفسلجية التي تجرى تحت ظروف هوائية يطلق عليها صناعياً بالعملية التخمرية اضافة الى عمليات التخمر والتي هي عملية اكسدة واختزال تجرى تحت ظروف لاهوائية وان المستلم الاخير للالكترونات فيها هو مادة عضوية كما اسلفنا .

تختلف نواتج التخمر في خلايا الاحياء المجهرية ويمكن تقسيمها بصورة عامة الى صنفين رئيسيين : —

اولا : استعمال تراكيب الخلية نفسها اما بشكل كلي او جزئي فمثلاً لو اخذنا خلية الخميرة فهي بصورة عامة لاتختلف كثيراً عن الكائنات الحية الاخرى لذلك يمكن استخدامها كطعام للاحياء الاخرى كالحيوان وحتى الانسان اما اجزاء الخلية كالجزيئات الكبيرة فيها مثل البروتينات والانزيمات والاحماض النووية والدهون او مكونات هذه الجزيئات كالاحماض الامينية والقواعد النووية فيمكن فصلها من الخلية واستخدامها لاغراض اخرى .

ثانياً استعمال افرازات الخلية مثل الكحول والاحماض العضوية والمذيبات والمضادات الحياتية وثاني اوكسيد الكربون بحالاته الثلاثة الغازية والسائلة والصلبة وغيرها من المواد . فالاحياء المجهرية قادرة على القيام ببعض التفاعلات الخاصة مثل اكسدة او اختزال المركبات وتمثيل المركبات الهيدروكروبونية ونتيجة لهذه العمليات تفرز مركبات يستفيد منها الانسان الى خارج اجسامها في الوسط الزرعي . سيجري في هذا الفصل بحث البعض من نواتج التخمر نظرا لاهميتها الاقتصادية

الاحماض الاعضوية

ذكرنا في الفصل الثامن ان العديد من الاحياء المجهرية مثل انواع من بكتريا الكلوستروبيوم واللاكتوباسلس والستروبتوكوكاس والاسيتوباكتر و الزوائف لها القدرة على تكوين الاحماض العضوية بكميات كبيرة من مركبات كربوهيدراتية في الوسط الزرعي وتم توضيح التفاعلات التي تؤدي الى انتاج هذه الاحماض اما تكوين الاحماض العضوية بواسطة الفطريات (واهمها الاسبر جلس) فلا يزال يوجد بعض الغموض حول التفاعلات التي تؤدي الى تكوين الاحماض العضوية بواسطة الفطر ولقد وجد في بعض الحالات ان تكوين الاحماض العضوية بواسطة الفطر يحدث عند وجود نقص في التغذية خاصة من ناحية ايونات المعادن الضئيلة التي تعمل كعوامل مرافقة للانزيمات وهذا النقص يؤدي الى تحول المصدر الكربوني الى الاحماض العضوية بدلا من استعماله للنمو.

ان الاحياء الدقيقة التي تكون الاحماض العضوية كأحد نواتج التخمر يجب ان لاتتأثر بهذه الاحماض خاصة عند تراكمها في الوسط الزرعي وانخفاض الرقم الهيدروجيني بدرجة كبيرة في بعض الحالات وتتطلب الصناعات احيانا معادلة الاحماض بصورة مستمرة لاستمرار عملية التصنيع. وقد يحدث احيانا بأن ازدياد الحموضة فيه فائدة عملية لزيادة الانتاج.

أمثلة على الاحماض العضوية التي تكونها الاحياء المجهرية

١ . حامض الستريك (Citric Acid)

يعتبر حامض الستريك واحد من اهم المنتجات التجارية المصنعة بواسطة الفطريات الطحلبية وهو احد نواتج الفعاليات الحيوية لها. ينتج هذا الحامض بتخمرات لانواع من الفطر بنسليوم او الفطر اسبرجلس وتحت ظروف خاصة. يستخدم في الصناعة الفطر اسبرجلس نايجر حيث ينمى في وسط كربوهيدراتي وبرقم هيدروجيني اقل من ٢ . يتكون حامض الستريك عند طور النمو الثابت وتختلف عتر الاسبرجلس نايجر في قدرتها على تكوين الحامض وعادة يتم اختيار العترة للانتاج على اساس ثباتها وقدرتها على تكوينها للسبورات وانتاجها العالي للحامض ويتم في الوقت الحاضر اختيار عتر مطفره من هذا الفطر للانتاج الافضل. ان انتاج حامض الستريك بواسطة الاحياء المجهرية اوسع من انتاجه من الفواكه والتي كان يعمل بها قبل استخدام الاحياء المجهرية لهذا الغرض.

يستعمل حامض الستريك في مجالات واسعة فهو يعتبر الحامض الرئيسي لتحضير المشروبات غير الكحولية والحلويات والفواكه المجمدة وغيرها.

اما في المجال الطبي فيستعمل ملح حامض الستريك عند نقل الدم وفي المنتجات الصيدلانية الفوارة ويمكن استعماله كمصدر للطاقة في الانسان . كذلك يستعمل في دباغة الجلود وفي اعادة نشاط الابار النفطية عند تراكم الحديد وانسداد ثقوب الرمل فيها .

يتم اختيار الوسط الزرعي الملائم لعترة اسبرجلس نايجر المختارة للانتاج على اساس النقص في المعادن الضئيلة مثل المنغنيز والحديد والخارصين وربما النحاس والفوسفات ولو ان مستوى احد هذه المعادن الضئيلة Trace Elements يعتمد على مستوى المعادن الاخرى لذلك يصعب الحصول على وسط مثل هذا . ولقد وجد ان الحامض لايتكون عند وجود الحديد او المنغنيز او الكوبالت او النيكل بكميات عالية نسبيا وان احتمال الفطر للخارصين والحديد يزداد عند اضافة الكحول المثيلي بكميات سامة قليلا .

تستعمل عدة مواد طبيعية في الصناعة مثل عصير البنجر الحاوي على ١٠ – ٢٠ ٪ سكر . يعامل هذا العصير قبل استعماله بالفيرو سيانايد (Ferrocyanide) او بالفير سيانايد (Ferricyanide) لتقليل نسبة المعادن الضئيلة فيه . اما اذا استعمل النشاء كمادة اولية وكمصدر كربوني مثل نشاء البطاطا فان انزيم الاميليز الموجود في الاسبرجلس اولا يستخدم لتحويل النشاء الى سكر ثم يستعمل السكر لانتاج الحامض . يحتوي الوسط الزرعي اضافة الى مصدر الكربون على مصدر النتروجين يضاف بشكل املاح مثل نترات الامونيوم ويضاف الى الوسط ايضا كبريتات المغنيسيوم وفوسفات البوتاسيوم ثنائية الهيدروجين ثم تعدل الحامضية باستعمال حامض الهيدروكلوريك الى الدرجة الفضلى وتجرى عمليات التخمر تحت ظروف فيزياوية معينة من درجات حرارة وتهوية .

لايوجد اثبات واضح على صحة التفاعلات الكيميائية الحياتية لتحويل السكر السداسي الى حامض الستريك ويظهر ان دورة الاحماض ثلاثية الكربوكسيل لاتتم بصورة طبيعية في الفطر اسبرجلس نايجر حيث تتوقف في مرحلة تجزئة حامض الستريك لتوقف عمل انزيمي ايسوستريك ديهايدروجينيز (Isocitric Dehydrogenase) والاكونتيز (Aconitase) وخاصة عند وجود نقص في العوامل المرافقة في ايونات المعادن او لوجود معدن النحاس او مركبات عضوية تثبط عمل هذه الانزيمات ولا تزال المعلومات غير كاملة حول عدم تجزئة حامض الستريك ويعتقد البعض ان بيروكسيد الهيدروجين (H_2O_2) وهو الذي يثبط عمل انزيم الاكونتيز حيث وجدت علاقة عكسية بين انزيم الكاتاليز وتراكم حامض الستريك وان النحاس يثبط عمل انزيم الاكونتيز وان معدن الزنك يثبط عمل بعض الانزيمات التي تعمل بعد انزيم الاكونتيز في الدورة .

لذلك يعتقد ان سكر الكلوكوز يمر بالمراحل التالية اثناء التخمر لتكوين

حامض الستريك فهو اولا ينقسم ليولد جزيئتين لمركب ثلاثي الكربون ثم ينقل جذر ثاني اوكسيد الكربون من هاتين الجزيئتين لتوليد جزيئة ثنائية الكربون . واخرى رباعية ثم يتكون حامض الستريك باتحاد الجزيئتين الثنائية ورباعية الكربون .

٢ ـ حامض اللاكتيك :

من الاحماض العضوية المصنعة بواسطة الاحياء المجهرية هو حامض اللاكتيك وتستخدم لهذا الغرض البكتريا لاكتوباسلس ديلبروكي **Lactobacillus delbrueckii** أو النوع لاكتوباسلس بلغاريكاس **L. bulgaricus** . وهذان النوعان ينتميان الى مجموعة البكتريا متشابهة التخمر . اما الاحياء المجهرية الاخرى التي تنتج حامض اللاكتيك فهي غير مهمة صناعيا لانها تنتمي للمجموعة الثانية (متغايرة التخمر) فهي تنتج اضافة لهذا الحامض بعض المركبات العضوية الاخرى مثل الكحول الاثيلي وحامض الخليك وثاني اوكسيد الكربون . ان انتاج متغايرة التخمر لحامض اللبنيك قليل لعدم استهلاك المصدر الكربوني لتكوين هذا الحامض فقط بل يستهلك ايضا لتخليق المركبات الكربونية الاخرى غير حامض اللبنيك لذلك يفضل استخدام الاحياء المجهرية متشابهة التخمر في الاغراض الصناعية ولقد سبق وان ذكرنا طريق تخمر حامض اللبنيك في الفصل الثامن حيث تسلك البكتريا طريقة امدن مايرهوف بارناس لتكوين حامض البايروفيك اولا ثم يتم اختزال هذا الحامض بواسطة لاكتيك ديهايدروجينيز Lactic Dehydrogenase وتبلغ كمية الانتاج من حامض اللبنيك عند سلوك البكتريا هذا الطريقة نفس الكمية تقريبا والمحسوبة نظريا وهي جزيئتين من حامض اللاكتيك لكل جزيئة سكر سداسي اما الوسط الزرعي المستخدم لهذه الصناعة فهو الشرش (Whey) الناتج في صناعة الجبن الذي يحتوي عادة على كميات لابأس بها من سكر اللاكتوز ومركبات بروتينية ومعادن وبعض الفيتامينات الاساسية . وكذلك يستعمل وسط سكر الدكستروز من الذرة او نشاء البطاطا الذي يحتاج الى تحلله اولا للسكر وكذلك تستعمل بعض السكريات نصف المنقاة مثل السكر المالتوز واللاكتوز والسكروز والدكستروز . يجب ازالة حامض اللاكتيك من الوسط حال تكونه وذلك لان البكتريا ليست لها قدرة عالية على احتمال الحامضية في الوسط لذلك يضاف ملح كربونات الكالسيوم لتكوين لاكتات الكالسيوم Calcium Lactate

يستفاد من حامض اللاكتيك كعامل اضافي لمعالجة نقص الكالسيوم في التغذية ويستخدم الحامض ايضا في الصناعات البلاستيكية والغذائية والنسيجية .

٣ ـ حامض الخليك

ينتج حامض الخليك (الخل) من اكسدة الكحول الاثيلي بواسطة انواع كثيرة الانتشار من الجنس استيوباكتر Acetobacter . تؤكسد هذه البكتريا الكحول الاثيلي الى حامض الاستيك عن طريق الاست الدهايد وتحت ظروف هوائية لذلك فان اى مركب او مادة تنتج الكحول الاثيلي عن طريق التخمر يمكن ان تستخدم كقاعدة لصناعة حامض الخليك تستخدم اولا الخمائر لتحويل هذه القاعدة الى الكحول الاثيلي ثم يصنع الخل بواسطة الاستيوباكتر . اما المواد المستعملة فتشمل الفواكه بانواعها ، العسل ، التمر وغيرها من المواد ويستعمل الخل كاضافات للاغذية ولقد عرفت صناعته منذ القدم كأحد الصناعات المنزلية .

الفيتامينات

يوجد العديد من الفيتامينات التي تتكون خلال العمليات الحيوية في الاحياء المجهرية ولكن فقط فيتامين ب ١٢ (B_{12}) والرايبوفلافين (Riboflavin) لها تطبيقات صناعية بواسطة الاحياء المجهرية .

فيتامين ب ١٢ (B_{12}) او الكوبامايد Cobamide)

ان هذا الفيتامين هو في الحقيقة ليس مركب واحد ولكن مجموعة من مركبات حاوية على حلقة بورفرين (Porphyrin) مركزها معدن الكوبالت يطلق عليها الكوباميدات تختلف هذه الكوباميدات عن بعضها البعض بالسلاسل الجانبية المرتبطة بحلقة البورفرين ولها تأثيرات مختلفة على نمو اجسام الحيوانات والانسان وتوجد اثباتات على انها تعمل كمرافق للانزيم في هذه الاجسام .

تشير الدراسات على ان هذا الفيتامين بانواعه المختلفة هو احد نواتج التخمر في الاحياء المجهرية ويحتمل ان تكون هذه الاحياء هي المصدر الوحيد لفيتامين ب ١٢ في الطبيعة . من هذه الاحياء البكتريا شبيهة العفن (Mold - Like Bacteria) التي تنتمي الى مجموعة الاكتينومايستس (Actinomycetes) مثل الستربتومـايس (Streptomyces) والـبروبونيبـاكـتريوم Propionibacterium والبكتريا الهوائية التي تعيش في امعاء الانسان والحيوانات والبكتريا العصوية التي تنتمي للجنس باسلس Bacillus وبكتريا لاهوائية وغيرها . لقد اتضح ان الانسان ليست له القدرة على الاستفادة من فيتامين ب ١٢ من الاحياء المجهرية التي لها القدرة على تخليقه والموجودة في امعائه وذلك لسببين اما لان الفيتامين لايتخلق هناك او لانه لايتحرر من خلايا الاحياء المجهرية التي تكونه في مناطق الامعاء التي يحدث فيها الامتصاص . لهذا يعتمد الانسان اعتمادا كليا على مايتوفر له من هذا الفيتامين في غذائه .

اما صناعيا فان اول انتاج لفيتامين ب ١٢ كان عند تصنيع المضاد الحياتي ستربتومايسين Streptomycin من بكتريا ستربتومايسس حيث وجد ان الفيتامين يتحرر كناتج عرضي لصناعة هذا المضاد الحياتي ولصناعة الاسيتون والبيوتانول. كذلك تبين ان هذا الفيتامين يوجد بتراكيز عالية نسبيا عند معاملة فضلات المجاري كنتيجة لفعالية الاحياء المجهرية فيها. عندئذ قامت بعض الصناعات للحصول على فيتامين ب ١٢ من هذا المصدر من اهم الاحياء المجهرية المستعملة صناعيا في انتاج هذا الفيتامين هي انواع من الجنس ستربتومايسس والبروبيونيباكتريوم والفلافوباكتريوم (Flavobacterium) اما الاوساط الزرعية المستخدمة لهذه الصناعات فجميعها يحتوي على مادة طبيعية الاصل مثل خلاصة اللحم وشراب نقيع الذرة (Cornsteep Liquor) وخلاصة الخميرة والكاسئين (Casein) وغيرها. ولقد استعملت في بعض الصناعات اوساط زرعية مصنّعة واعطت نتائج مقاربة للاوساط الزرعية نصف المصنعة. ولقد وجد ان الاحياء المجهرية المستعملة في هذه الصناعات والتي تكون الاحماض نتيجة لتخمرها مركبات الكربوهيدرات تحتاج الى محاليل حيادية (Buffers) او قواعد لمعادلة الاحماض هذه وللحصول على انتاج اعلى للفيتامين. ولقد وجد ايضا ان معظم هذه الاوساط يتطلب وجود معدن الكوبالت.

الرايبوفلافين Ribofavin

يستعمل هذا الفيتامين في غذاء الحيوانات الاليفة ويعتبر اساسي لنمو وتكاثر الانسان والحيوانات حيث يوجد كجزء من مرافقا الانزيم فلافين احادي النيوكليوتايد (FMN) وفلافين ادنين ثنائي النيوكليوتايد (FAD) لصنع هذا الفيتامين كيمياويا وحياتيا باستخدام احياء مجهرية تنتمي للفطريات الكيسية مثل اريموثيسيم اشبي Eremothecium ashbyii واشبياكوسبي **Ashbya gossypii** ويوجد هذا الفيتامين كناتج عرضي في صناعة الاستيون والبيوتانول من البكتريا اللاهوائية التي تنتمي للجنس كلوستريديوم. عند تصنيع هذا الفيتامين من الفطريات تستخدم الاوساط الزرعية الحاوية على سكريات نصف نقية مثل سكر الكلوكوز نصف النقي اضافة الى مركبات عضوية اخرى غير نقية. يمكن الاستغناء عن سكر الكلوكوز باضافة زيوت نباتية كزيت الذرة وتستعمل المزارع الغاطسة (Submerged) المعرضة لتيار قليل من الهواء ويجب مراعاة كمية الهواء الداخل للحصول على كمية اوفر من المايسليوم وان زيادة الهواء يسبب قلة في نمو المايسليوم. ان هذا الفيتامين يتولد عند مرحلة تكوين السبورات في الفطر ففي هذه المرحلة يحصل تغير في تنفس الفطر وذلك من التنفس الذي يستخدم السايتوكروم الى التنفس الذي يستخدم الفلافبروتين. ان هذا التغير في التنفس يرافقه تكوين كميات اكبر من الفلافين.

فيتامين أ

يتولد فيتأمين أ بتحويل البيتاكاروتين Carotene -β الى فيتامين أ في الجسم . يصنع البيتاكاروتين كيمياويا وحياتيا ولكن الطرق الحياتية لاتعتبر اقتصادية مقارنة بالكيمياوية . يصنع البيتاكاروتين بواسطة فطريات بدائية تنتمي الى الفطريات الطحلبية او العشبية Phycomycetes مثل فايكومايس بلاكيسليانس Phycomyces Blakesleeaenus وكوانيفورا كوكربتارم Choanephora Cucurbitarum وبلاكي سلياترسبورا Blakeslea trispora يضاف للاوساط الزرعية المستعملة للتخمر عادة نوع من الكيتون يدعى بيتا ايونون Ienone -β تركيبه الكيمياوي يشبه جزءاً من تركيب الفيتامين ويعتقد بأن هذا الكيتون يحول الفعاليات الحيوية للفطر الى انتاج كميات اكبر من الانزيم المتخصص لتكوين الفيتامين .

البروتينات

منذ حوالي عشرون عاما ازداد اهتمام العالم وخاصة هيئة الامم المتحدة في النقص الحاصل في البروتين في الغذاء وتأثيره على نمو وصحة الاطفال خاصة في الدول النامية . وكانت هذه الظاهرة مشخصة قبل ذلك على انها احد اسباب تأخر بعض الشعوب اقتصاديا واجتماعيا لذلك كانت تلك الشعوب تستلم .مساعدات تشمل الحليب المجفف كغذاء للاطفال عند حصول مجاعة لديها . اصبحت هذه المساعدات غير كافية عند تزايد الحاجة والنمو السكاني في العالم ولارتفاع اسعار البروتين في الغذاء التقليدي كالحليب واللحوم والبيض والاسماك خاصة في دول المناطق الاستوائية حيث يتعذر على شعوبها مجاراة الحاجة للبروتين . لذلك كان من الضروري البحث عن طرق لتركيز البروتين من مصادر اخرى غير مصادره التقليدية مثل لحوم الحيوان ومنتجاته . بدات صناعات استخلاص البروتين من النبات مثل فول الصويا وبذور القطن وكذلك من الاحماض الامينية المصنعة وغيرها . نالت الاحياء المجهرية قسطا من هذه الاهتمامات نظرا لسرعة تكاثرها واهتم المعنيون في تركيز بروتينها واطلق على البروتين المستخلص منها اسم بروتين وحيد الخلية Single Cell Protein (SCP) كان هدف تصنيع بروتين وحيد الخلية استعماله كعلف حيواني في بادىء الامر ثم تطور الى طعام للانسان مؤخرا ويجرى اختيار الاحياء المجهرية وطرق تنميتها والمراحل التي يتم تصنيع البروتين والاختبارات التي تجرى عليه بعدها بناء على هذا الهدف . يتم اختيار الاحياء المجهرية اعتمادا على الاسس التالية : اولا ان لاتكون من الانواع المسببة للامراض او المولدة للسموم . ثانيا ان يكون تصنيع البروتين منها ذو طبيعة خاصة ومقبولة عند تناولها كطعام . ثالثا ان يعطي الكائن المجهري حاصلا وفيرا من البروتين وذو

نوعية غذائية جيدة اي له قيم عالية للفائدة الكلية للبروتين او الاحتفاظ بالنيترجين (١) ونسبة كفاءة البروتين (٢) ، رابعا . سرعة نموه عالية ولا يحتاج الى اوساط زرعية ذات كفاءة عالية . يمكن اختيار الاحياء المجهرية لصناعة البروتين الوحيد الخلية من الفطريات الخيطية (المكونة للمايسليوم) والخمائر والطحالب والبكتريا . نالت الخمائر مثل السكارومايس Saccharomyces والتوريولويبس Torulopsis والكانديدا Candida القسط الاكبر من الاهتمام لانها كانت مستعملة ومجربة في الغذاء مثل الخبز والخمر وغيرها . اما الفطريات الدقيقة فكان اختيارها كمنتج للبروتين قليل نسبيا وذلك للشعور العام بانها غالبا ماتكون سامة ولبطىء نموها وتحتوي على نسبة واطئة ونوعية رديئة من البروتين . اما الاوساط الزرعية فيوجد العديد من المصادر التي يمكن استخدامها كقاعدة (Substrate) لنمو الاحياء المجهرية وتشمل هذه المصادر ثلاث انواع رئيسية هي .

١ ـ مصادر طاقة او مشتقات هذه المصادر مثل الغاز الطبيعي ، زيت الغاز ، الكحول الاثيلي والمثيلي وحامض الخليك .

٢ ـ الفضلات مثل الشرش (Whey) الناتج من صناعة الجبن وسائل السلفايت من صناعة الورق وفضلات الحيوانات والمجاري وثاني اوكسيد الكربون وغيرها .

٣ ـ مواد من مصادر نباتية مثل النشاء والسكر والسليلوز وغيرها . نالت المجموعة الثانية من هذه المصادر اهتماماً اوسع نظراً لضئالة او انعدام كلفة شرائها ولاهتمام العالم بصحة البيئة باعتبار هذه المجموعة ملوثة للبيئة اصلا حيث يتم التخلص منها والاحالة دون رجوعها للبيئة بهذا الشكل . توجد نقطة اساسية مهمة

(١) الفائدة الكلية للبروتين (الاحتفاض بالنتروجين) Net Protein Utilization (NPU) والتي فيها يقدر النتروجين الكلي للجسم لمجموعتين من الحيوانات التجريبية (الجرذان) واحدة تتناول البروتين والاخرى لاتتناوله لمدة عشرة ايام . وهذه تقدر بالنسبة للنتروجين المستهلك . ان عملية قياس البروتين في بروتين وحيد الخلية بطريقة كلدال ((Kjeldahl) (اي بحساب محتوى النتروجين × ٦,٢٥) غير مناسب وذلك لارتفاع نسبة النتروجين الموجود في مركبات غير بروتينية الى البروتين الكلي فيها وهذا الارتفاع يأتي نتيجة للنسبة العالية من الحامض النووي الرايبوزي (RNA) في هذا البروتين والى مركبات اخرى في الخلية مثل الكايتين في الفطريات الطحلبية . لذلك استخدم بعض الباحثين طريقة اخرى وهي حساب معامل نتروجين البروتين Protein Nitrogen Coefficient (PNC) الذي يعكس النسبة المئوية لنتروجين الحامض النووي الى النتروجين الكلي في الكتلة الحيوية كالاتي

$$\text{معامل نتروجين البروتين} = \frac{\text{نتروجين الحامض النووي}}{\text{النتروجين الكلي}} \times ١٠٠$$

ويمكن بهذا المعامل قياس نسبة تخفيف النيترجين لبروتين وحيد الخلية بقواعد الاحماض النووية .

(٢) نسبة كفاءة البروتين (Protein Efficiency Ratio (PER
والتي فيها يقارن معدل الزيادة في وزن الجسم للوحدة الواحدة من البروتين مع تلك الزيادة لبروتين مرجع او قياسي ويستعمل الكاسئن (Casein) لهذا الغرض (وتبلغ هذه القيمة للكاسئن ٢,٥)

حول استعمال فضلات الحيوانات لتصنيع بروتين وحيد الخلية وذلك لان هذه الفضلات يمكن تحويلها كيمياوياً بالاختزال بواسطة اول اوكسيد الكربون الى زيت والمقصود بالزيت هنا هو المستعمل كمصدر للطاقة . ولقد جرت بعض الاحصائيات في الولايات المتحدة الاميركية حول كمية هذه الفضلات وحاصل تصنيعها واتضح وجود حوالي ٢٠٠ مليون طن من فضلات الحيوانات لعام واحد ولقد تم حساب كمية الزيت المنتج من هذه الفضلات وكان مليون برميل تقريباً لليوم الواحد اما عند تصنيعها للبروتين فيمكن الحصول على حوالي ٥٠ مليون طن في السنة .

عند تصنيع البروتين من اي مصدر كان يجب يخضع هذا البروتين للشروط العامة للاغذية المصنعة واهمها سلامته الصحية اي خلوه من الجراثيم وسمومها وعلو سيطرته النوعية واتضح بعد ذلك ان صناعات البروتين تحتاج الى متابعة وسيطرة نوعية بغية تأمين سلامتها لصحة الانسان وخلوها من المركبات السامة التي قد تتركز مع البروتين اثناء تركيزه لذلك انبثقت بعض اللجان في هيئة الامم منها اللجنة او المجموعة الاستشارية للبروتين Protein Advisory Group (PAG) اختير اعضاؤها من بين اعضاء منظمة الغذاء والزراعة الدولية

FOOD and AGRICULTURE ORGANIZATION (FAO)

ومنظمة الصحة الدولية

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO)

واليونيسكو

UNITED NATIONS EDUCATIONAL, SCIENTIFIC and CULTURAL ORGANIZATION (UNESCO)

لمتابعة مشكلة نقص البروتين في العالم . كان من اول الجهود التي بذلتها اللجنة الاستشارية للبروتين مساعدة الدول والحكومات في تصنيع البروتين غير التقليدي ولكن البعض من هذه الجهود لم يكن له تأثير ملموس بالنسبة للنقص المتزايد في بروتين الغذاء لدى تلك الدول ولكن البعض من هذه الصناعات لاقى نجاحاً مثل بروتين فول الصويا المستعمل كمساعد في بعض انواع اغذية الاطفال وكذلك بروتين الفول السوداني . وتحرر البيان الاول للجنة الاستشارية للبروتين حول استعمال بروتين وحيد الخلية كغذاء للانسان عام ١٩٧٠ وصرحت اللجنة بوجود اثباتات كافية لاستعمال انواع معينة من الخمائر والطحالب والبكتريا كمصادر للبروتين والفيتامينات والمعادن للانسان والحيوان وان السلامة تعتمد على اختيار الكائن الدقيق وعلى طبيعة المادة المختارة لنمو هذا الكائن وعلى الاجراءات الاخرى التي تتخذ في تصنيع البروتين وكذلك نصحت باجراء اختبارات موسعة تعتمدها هذه

اللجنة لكل بروتين يصنع للمرة الاولى . ومن خلال الدراسات حول بروتين وحيد الخلية برزت مشكلة الاحماض النووية (RNA) وتراكيزها العالية في هذه الخلايا لسرعة تكوينها للبروتين وتكاثرها . ان مستوى الحامض النووي RNA يتغاير تبع سرعة النمو للكائن المجهري وتم حساب هذا المستوى لبعض الاحياء المجهرية كالطحلب سبريولاينا (Spirulina) وكانت ٥,٤٪ من الكتلة الحيوية وفي الخمائر بصورة عامة ٦ – ١٠٪ وان اعلى نسبة لها كانت في البكتريا وبلغت حوالي ١٨٪ . ان تناول الانسان لهذه النسبة العالية من الاحماض النووية فيه محاذير خاصة اذا ازدادت كميتها عن غرامين لليوم الواحد للانسان البالغ في غذائه الاعتيادي . فاذا تناول الانسان اكثر من هذه الكمية في اليوم فلربما يؤدي ذلك الى زيادة في حامض اليوريك في مصل الدم عن الحد الطبيعي والبالغ ٧٪ ملغم وهذه الزيادة تولد خطورة على صحة الاشخاص الذين يتناولونه وكمعالجة لهذه الظاهرة اقترح المعنيون بازالة الزيادة في الاحماض النووية بعد النمو وذلك باستعمال الانزيم محلل حامض الرايبوز النووي (RNA-ASE) وباستعمال طرق كيمياوية . واتضح من الدراسات كذلك ان سلامة البروتين وحيد الخلية عند تجريبه على الحيوانات التجريبية لايكفي للاستنتاج بسلامته للاستهلاك البشري وذلك لظهور بعض الاعراض المرضية في الانسان عند تناوله بروتين كان قد اثبتت

سلامته بالنسبة للحيوانات التجريبية لذلك وعند استعمال الانسان لبروتين وحيد الخلية يجب السيطرة على القاعدة التي يستهلكها الكائن المجهري للنمو ومعرفة نوعيتها وسلامتها ولقد كان لدى المعنيين اهتماما كبيراً باحتمال تركيز الاحياء المجهرية النامية على مركبات هيدروكربونية من البترول للشوائب مثل الهيدروكربونات متعددة الحلقات (Polycyclic Aromatic Hydrocarbon) والتي فيها مخاطر عند تناولها من قبل الانسان . ان وجود هذه الشوائب يعتمد على نقاوة القاعدة وعلى غسل ناتج البروتين جيداً من هذه المركبات . لذلك يجب ان يخضع بروتين وحيد الخلية الى جميع الاختبارات التي وضعتها اللجنة الاستشارية للبروتين للتأكد من سلامته للاستهلاك البشري وان تتم التجارب على متطوعين من البشر حيث لاتكفي سلامة الحيوانات التجريبية لهذا الغرض .

الدهون

توجد الكثير من الادعاءات بوجود قطرات من الدهون تبلغ اقطارها حوالي ٠,١ من المايكرون كجزء من محتويات السايتوبلازم وخاصة في الفطريات ولقد تمت دراسة هـذه القطرات الـدهنيـة في خليـة الخمـيرة سكـارومـاسيس سرفيس **Saccharomyces cerevisiae** ولقد وجد بانها تتكون من استرات الكليسرول والستيرول . اما الاحماض الدهنية في هذه الاسترات فهي مرستك Myristic وبـالمتـك Palmitic وسيتيـارك Stearic واوليـك Oleic ولنوليـك Linoleic ولينولينك Linolenic تعتمد كمية هذه الدهون في بعض الانواع من الخمائر المـدروسة مثـل كـانـديـدا يوتلس **Candida utilis** ورودوتوريولا كراسلس **Rhodotorula gracilis** وتوريولوبسس ليبوفيرا **Torulopsis lipofera** على طبيعة الاوساط الزرعية ويمكن ان تبلغ نسبة الدهون ٦٣٪ من الوزن الجاف للخميرة . ولقد استعملت المصادر الكربونية مثل الكلوكوز والفركتوز والسكروز وغيرها بتراكيز مختلفة لهذا الغرض تستخدم عادة الاوساط الزرعية قليلة النيترجين لكي لاتتحول السكريات الى البروتين . ويستعمل ملح كبريتات الامونيوم كمصدر للنتروجين كما ويتم السيطرة على الرقم الهيدروجيني والحرارة والتهوية المناسبة لنوع الخمـيرة المستخـدم . امـا في الفطريـات الخيطيـة فيمتـاز الجنس بنسليوم واسبرجلس بكفاءتها العالية في خزن المواد الدهنية .

اما المصادر الكربونية التي استعملت للحصول على الدهون منها فهي متعددة مثل البطاطا والمولاس Molass وملاس بنجر السكر والبطاطا الحلوة والدبس العراقي وغيرها . يضاف عادة الى مصادر الكربون مصادر للنتروجين مثل اليوريا او نترات الامونيوم . اما التفاعلات التي يتم بواسطتها تكوين هذه الدهون فقد اشرنا اليها في الفصل الخامس .

المضادات الحياتية :

هي مركبات عضوية تتكون في الاحياء الدقيقة بصورة عرضية خلال عمليات الايض كمركبات ثانوية (Secondary Metabolites) ليست لها وظيفة معينة في الخلية التي تكونها ولها تأثير محد لنمو كائن دقيق أو قاتل لكائن دقيق اخر وذلك بتراكيز واطئة جدا . ان هذا التعريف لايشمل المواد المستخلصة من النباتات الخضراء او من مصادر اخرى غير الكائنات الدقيقة او الاحماض العضوية او اي مركب اخر يحد من نمو الاحياء المجهرية وغير فعال بتراكيز واطئة جدا . تتخصص المضادات الحياتية بنوع الكائن الدقيق الذي يكونها ولكل منها مجموعة خاصة من الاحياء المجهرية التي تتأثر بها عند العلاج يطلق عليها طيف التثبيت (Inhibition Spectrum) تعتبر البكتريا التي تنتمي للرتبة :اكتينومايستالس

(Actinomycetales) اكثر الاحياء الدقيقة تكويناً للمضادات الحياتية ويعتبر الجنس ستربتومايس (Streptomyces) اكثر انتاجا واستعمالا في صناعات المضادات الحياتية .

ان من المضادات الحياتية المهمة صناعيا التي ينتجها الجنس ستربتومايس هي الستربتوماسين (Streptomycin) ونيومايسين (Neomycin) وكانامايسين (Kanamycin) وارثرومايسين (Erythromycin) والتتراسايكلين (Tetracycline) . اما البنسلين Penicillin والسيفالوسبورين Cephalosporin فيعتبران المضادان الحياتيان الاساسيان والوحيدان اللذان يستعملان ضد البكتريا وهما من اصل فطري .

بدأ تصنيع المضادات الحياتية بعد اكتشاف البنسلين من قبل العالم فليمنك (Fleming) عام ١٩٢٩ واعتمدت هذه الصناعات على الاحياء المجهرية بصورة اساسية وذلك لان معظم هذه المضادات لها تركيب كيمياوي غير اعتيادي وتتكون بصورة عرضية في الاحياء المجهرية مما جعل تصنيعها بطريقة التركيب الكيمياوي غير ممكنه يستثنى من ذلك المضاد الحياتي كلورا مفنيكول (Chloramphenicol) الذي ينتجه النوع سكرمايسس فنزويلي **S. Venezuelae** والذي وجد ان تركيبه الكيمياوي يمكن تخليقه بطرق كيمياوية لذلك يعتبر المضاد الحياتي الوحيد الذي يصنع كيمياوياً .

ان من اهم التطبيقات العملية للمضادات الحياتية هي علاج امراض الانسان والحيوان وحتى النبات وتضاف كعامل اضافي في علف الحيوانات الداجنة لوقايتها من الاصابة وكذلك تستعمل في حفظ الاطعمة رغم وجود كثير من المحاذير لهذه العملية . تؤثر المضادات الحياتية على الاحياء التي تعمل عليها وذلك بتوقيفها تكوين البروتين او تمثيل الاحماض الامينية او تكوين جدار الخلية او توقيف انقسامات الخلية وبالتالي توقيف النمو او توقيف تكوين الانزيمات المحفزة .

(Inducible Enzymes) او تأثيرها على وظيفة غشاء الخلية في النضوج .

البنسلين كمثال للمضادات الحياتية المهمة

ان البنسلين ليس مضادا حياتيا واحدا بل انواع عديدة من المضادات (البنسلينات) تختلف فيما بينها في تركيب السلسلة الجانبية للجزيئة وتتشابه في النواة تنتج البنسلينات انواع عديدة من الفطريات ولكن الفطران الاسبرجللس Aspergillus والبنسليوم Penicillium ينتجانه بصورة رئيسية . اكتشف البنسلين العالم فلمنك وذلك عند ملاحظته وجود تلوث من الهواء حد من نمو زرع البكتريا ستافيللوكوكاس اوريس **Staphylococcus aureus** النامي على سطح

الاكار وكان هذا التلوث يعود للفطر بنسليوم نوتاتوم **P. notatum** بعد دراسة فلمنك لظاهرة التضاد (والتي كانت معروفة من قبل) التي شاهدها اتضح له ان العامل الذي اوقف نمو بكتريا الستافيلوكوكاس كان مادة ذائبة كونها الفطر بنسليوم لها القدرة على الانتشار في الاكار والتي يمكن تركيزها وان الناتج غير المنقى منها كان غير سام للجسم الحيواني ووضح فلمنك قيمتها العلاجية واتضح بعدئذ ان تلك المادة التي درسها فلمنك كانت بنسلين ايف (F) . لقد كان لاكتشاف البنسلين بداية عصر جديد لصناعات المضادات الحياتية خاصة خلال الحرب العالمية الثانية حيث انقذت هذه المنتجات حياة الكثيرين من جرحى الحرب استعمل لصناعة البنسلين في بادىء الامر نفس العزلة من بنسليوم نوتاتوم التي اكتشفها فلمنك وبعد اختيارات للعديد من الفطريات اتضح وجود انواع اخرى من الفطريات مثل بنسليوم كرايسوجنيوم **P. Chrysogenum** لها القدرة على انتاج اكبر للمضاد الحياتي والنوع كرايسوجنيوم يستعمل حاليا في الانتاج الصناعي للبنسلين بعد ان اجريت عليه طفرات وراثية لزيادة انتاجه . يتخلق البنسلين في طور النمو الثابت للفطر ويطلق الى الوسط الزرعي حال تكونه . ففي بداية تصنيع البنسلين كان الفطر ينمى في اوساط زرعية مصنعة ثم تبين بعد ذلك ان هذه الاوساط تصبح ملائمة اكثر للانتاج لو اضيف اليها بعض المركبات العضوية الطبيعية مثل مهضوم الكاسين (Casein Digest) او خلاصة اللحم او الخميرة او مصادر نتروجينية اكثر تعقيدا مثل خلاصة بذور الدهن كبذور القطن أو خلاصة فول الصويا او غيرها من المركبات . ان الوسط الزرعي المستعمل حاليا للاغراض الصناعية معقد التركيب يحتوي على سائل نقيع الذرة ومصدر السلسلة الجانبية للبنسلين المراد تصنيعه ولاكتوز واملاح ومركبات اخرى يستهلك الفطر لنموه المركبات النتروجينية وحامض اللاكتيك المتوفرة في سائل نقيع الذرة . عند قرب استهلاك مركبات الكربون من هذا السائل يتوقف نمو الفطر ويبدأ بانتاج البنسلين كناتج عرضي وذلك باستخدام الكربون الموجود في سكر اللاكتوز والمضاف للوسط وذلك لان هذا المصدر الكربوني لايتجزأ . ويمثل بسهولة بواسطة الفطر ولا يستهلك للنمو لهذا السبب . ولقد تم زيادة الانتاج بالسيطرة على ظروف الزرع الاخرى من تهوية ودرجات حرارة ورقم الهيدروجين حيث يمكن الحصول الان على عدة غرامات من البنسلين لكل لتر من الوسط الزرعي . كذلك يمكن السيطرة على نوع البنسلين ت الناتج بواسطة مصدر . (Precursor) السلسلة الجانبية لجزيئة البنسلين ولكن هذه العملية محدودة نوعا ما بالسمية هذه المصادر للفطر نفسه او لان الفطر قد يستغلها كمصدر للطاقة وليس لانتاج البنسلين . ولكن هذه العملية طورت بحيث امكن تخليق البنسلين جزئيا للحصول على جزيئة لها صفات معينة وذات قدرة على علاج امراض معدية معينة كجزيئة الامبسلين التي تؤثر على

البكتريا السالبة والموجبة لصبغة غرام . بعد توسع الدراسات على البنسلين وجد ان نواة الجزيئة (وهي حامض ٦ ـ امينوبنسيلانك 6- Aminopenicillanic Acid) توجد عادة في الوسط الزرعي الذي نما فيه الفطر واعتقد بامكانية عزل هذا الحامض او هذه النواة من الوسط ثم مفاعلتها كيمياويا مع مختلف انواع السلاسل الجانبية للحصول على انواع متعددة للبنسلين وحسب الرغبة . ولكن تبين ان هذا الحامض لايتكون بكميات وافية وانه صعب العزل من الوسط الزرعي لطبيعته المحبة للماء (Hydrophilic) تمكن العلماء بعدئذ من الوصول الى هدفهم بالحصول على انواع من البنسلين حسب رغبتهم اي على بنسلين نصف مصنع وذلك باستعمال انزيم يطلق عليه البنسلنيز Penicillinase او بنسلين اميديز Penicillin Amidase او بنسلين اسيليز Penicillin Acylase . يعمل هذا الانزيم على قطع السلسلة الجانبية من النواة ثم تفاعل النواة مع سلسلة جانبية اخرى مرغوب فيها . يتم الحصول على الانزيم للاغراض الصناعية من فطريات وبكتريا مختلفة يمكن استخدامها لهذا الغرض . اما انواع البنسلين نصف المصنعة فتتميز عن البنسلين الطبيعي بعدم تأثرها بانزيم البنسلينيز بسهولة وهذه الصفة مهمة طبيا لامكانية استعمال هذه الانواع نصف المصنعة لعلاج الامراض التي تسببها بكتريا لها القدرة على مقاومة البنسلين الطبيعي بافرازها انزيم البنسلينيز .

يعمل البنسلين على خلايا الاحياء البدائية النواة بتثبيطه عمل الانزيمات المسؤولة عن ربط سلاسل البيتايد الجانبية في جزيئة الببتيدوكلايكان Peptidoglycan لجدار الخلية .

مضادات حياتية اخرى :

يوجد العديد من المضادات الحياتية التي تنتجها البكتريا ولكن معظمها يتصف بعدم الثبات وبالسمية وصعوبة التنقية وهي مركبات عديدة الببتيدات (Polypeptides) ان صفة السمية في المضادات الحياتية التي تنتجها البكتريا صفة مشتركة مع المضادات التي تكونها الفطريات بصورة عامة ماعدا القليل منها والذي يستخدم في علاج الامراض المعدية من المضادات المستعملة طبيا انواع يكونها الجنس ستريتومايسس Streptomyces الذي ينتمي للرتبة اكتينومايستالس Actinomycetales مثل الستربتومايسين الذي يكونه ستربتومايسس كريسيس S.griseus والارثرومايسين الذي يكون ستريتومايسس ارثريس S .erythreus والكلورامفنيكول الذي يكون ستربتومايسس فينيزويلي S. Venezuelae وجميعها واسعة المدى (Broad Spectrum) اي ان لها القدرة على قتل مجموعة واسعة من البكتريا . وجميع هذه المضادات الحياتية تنتج تحت ظروف تخمر هوائي ويعتمد على

الاحياء المجهرية في تصنيعه فيما عدا الكلورافينيكول الذي يصنع كيمياويا .

اضافة الى المضادات الحياتية التي تعمل ضد البكتريا هناك مجموعة اخرى من المضادات تنتجها الستربتومايسس تعمل ضد الفطريات والخمائر ومعظم هذه المضادات تنتمي الى مجموعة يطلق عليها بوليين Polyenes . جميع هذه المركبات غير ثابتة نسبيا حيث تتأثر بالضوء وبالمحاليل قليلة الحموضة او القاعدية ولا تذوب في المذيبات غير المتأينة ولا في الماء في رقم هيدروجيني متعادل . من هذه البوليين المضاد الحياتي نستاتين (Nystatin) والكانديسايدين (Candicidin) وبنتامايسين (Pentamycin) .

تحتوي الاوساط الزرعية التي تتكون فيها البوليين عادة على مصدر او اكثر للنتروجين ذو اصل نباتي او حيواني مثل خلاصة الخميرة وفول الصويا او خلاصة اللحم او الكاسين (Casein) وغيرها . معظم هذه المصادر توفر اضافة للنتروجين مصادر للطاقة والمعادن التي تحتاجها البكتريا للنمو . تحتوي الاوساط كذلك على مصدر كربوني للطاقة كالمركبات الكربوهيدراتية مثل الكحول او الدهون النباتية او الحيوانية والحوامض الدهنية وكذلك تحتوي على املاح معدنية . في جميع انواع البوليين المايسليوم هو جزء البكتريا المكون للمضاد الحياتي وفي معظم الصناعات يعزل المايسليوم اولا من بقية النمو البكتيري ويستخلص بالمذيبات للحصول على البوليين .

1- ALEXANDER, M. (1977). Indroduction to soil microbiology, 2nd edit. New York; John Wiley and Sone.
2- BAILEY, J.E. and OLLIS, D.F. (1977). Biochemical engineering. New York; McGraw Hill Book Company.
3- BEAMAN, R.G. (1967). Venigar Fermentation. In: Microbial Technology, Ed. H.J. Peppler, pp. 344- 359. New York; Reinhold publishing Corp.
4- BECKING, J.H. (1977). Dinitrogen-Fixing associations in higher plants other than legumes. In: A Treatise of Nitrogen Fixation, Ed. R.W.F. Hardy, Sec. III, pp. 185-275. New York; Wiley -Interscience publications.
5- BENEMANN, J.R. and VALENTINE, R.C. (1972). The pathways of nitrogen fixation. Advances in Microbial Physiology, 8, 59 - 104.
6- BERGERSEN, F.J. (1977). Physiological chemistry of dinitrogen fixation by legumes. In: A Treatise of Nitrogen, Fixation, Ed. R.W.F. Hardy, sec. III, pp. 519 - 555. New York; Wiley - Interscience publications.
BOYD, W.C. (1962). Introduction to immunochemical specificity. pp. 34-49. New York; John Wiley and sons.
8- BURNS, R.C. (1979). Mechanism of Dinitrogen Reaction. In: A Treatise on Dinitrogen Fixation, Ed. R.W.F. Hardy, Sec I and, II, pp. 491 - 514. New York; Wiley - Interscience publications.

9- CASTDA, L.E. (1968). Industrial microbiology. New York ; John Wiley and Sons.

10- CLIFTON, C.E. (1957). Introduction to bacterial physiology. New York ; McGraw Hill Book Company.

11- DANFORTH, W.F. (1962). Substrate assimilations and heterotrophy. In:Physiology and Biochemistry of Algae, Ed. R.A. Lewin, pp. 49 - 123. New York; Academic press.

12- DAWES, I.W. and SUTHERLAND, I.W. (1978). Microbial physiology. In : Basic Microbiology, Ed. J.F. Wilkinson, Vol 4. Oxford; Blackwell scientific publications.

13- DEAN, A.C.R., PIRT, S.J. and TEMPEST, D.W. (Edits.). (1972). Environmental control of cell synthesis and function. New York; Academic press.

14- DEMAN, A.L. (1959). The Mechanism of Penicillinbio-synthesis. Advances in Applied Microbiology, 1, 23-47.

15- DOELLE, H.W. (1975). Bacterial metabolism, 2nd edit. New York ; Academic Press.

16- EADY, R.R. and SMITH, B.E. (1977). physico-chemical properties of nitrogenase and its components. In : A Treatise of Nitrogen Fixation, Ed. R.W.F. HARDY, Sec-I and II, pp. 399-490. New York ; Wiley-Interscience publications.

17- FOGG, G.E. (1974). Nitrogen Fixation. In : Algal Physiology and Biochemistry, Ed. W.D.P. Stewart; Botanical Monograph, Eds. J.H. Burnett, H.G. Baker, H.Beevers and F.R. Whatley, Vol. 10, pp. 560-582. Oxford; Blackwell Scientific publications.

18- FORD, L.R. Sr. and FORD, L.R. Jr. (1963). Calculus. pp. 185-188. New York; Mc Graw Hill Book Company.

19- HARDY, R.W.F. (1979). Reducible substrates of nitrogenase In: A Treatise on Dinitrogen Fixation, Ed. R.W.F. Hardy, Sec. I and II, pp. 515-568. New York; Wiley-Interscience publication.

20- HARRISON, J.S. (1970). Miscellaneous products From yeast. In: The Yeasts, Eds. A.H. Rose and J.S. Harrison, Vol. 3, pp. 529-545. London; Academic press.

21- HARRISON, J.S. and GRAHAM, J.C.J. (1970). Yeasts in Distillery Practice. In : The Yeasts, Eds. A.H. Rose and J.S. Harrison, Vol. 3, pp. 283-348. London; Academic press.

22- HASSAN, F.K and TISCHER, R.G. (1972). Oxidation-Reduction potential of a half-strenght Repaske's mineral salt medium. J. Miss. Acad. Scivol. **XVII**, 25 - 31.

23- HOLM-HANSEN, O. (1962). Assimlation of carbon dioxide. In: Physiology and Biochemistry of Algae, Ed. R.A. Lewin, pp. 25 - 45. New York; Academic Press.

24- HUMPHREY, A.E. (1975). Product outlook and technical Faesibility of single cell protein. In: Single Cell Protein, Eds. S.R. Tannenbaum and I.C. Wang, Vol. II., pp. 1-23. Cambridge Massachusetts; The MIT Press.

25- LA RUE, T.A. (1977). The bacteria. In: A Treatise on Dinitrogen Fixation, Ed. R.W.F. Hardy, Sec. III, pp. 19-62. New York; Wiley-Interscience publications.

26- LEHNINGER, A.L. (1975). Biochemistry, 2nd edit. Worth publishers InC.

27- LILLY, V.G. and BARNETT, H.L. (1951). Physiology of the Fungi. 1st Edit. New York; Mc Graw Hill Book Company.

28- LOCKWOOD, L.B. (1975). Organic acid production. In: The Filamentous Fungi, Eds. J.E. Smith and D.R. Berry, Vol. 1, pp. 140-157. London; Edward Arnold.

29- LOCKWOOD, L.B. and SCHWEIGER, L.B. (1967). Citric and Itaconic acid Fermentations. In: Microbial Technology, Ed. H.J. Peppler, pp. 183-199. New York; Reinhold publishing corp.

30- MALEK, I. and FENCL, Z. (Edits). Translated by Liebster J. (1966). Theoretical and methodological basis of continuous culture of microorganisms. Published by publishing House of the Czechoslovak Academy of Science. New York; Academic Press.

31- MILLBANK, J.W. (1977). Lower plant association. In : A Treatise of Nitrogen Fixation, Ed. R.W.F. Hardy, Sec. III, pp. 125-151. New York ; Wiley-Inter-science publications.

32- MILNER, M. (1975). Role of the international agencies. In : Single Cell Protein, Eds. S.R. Tannenbaum and I.C. Wang, Vol. II, pp. 621-628. Cambridge Massa-chusetts; The MIT Press.

33- MOAT, A.G (1979). Microbial Physiology. New York; John Wiley and Sons.

34- MONOD, J. (1949). The growth of bacterial cultures. Ann. Rev. Microbiol. 3,371-394. As presented in: Bench-mark Papers. in Microbiology; Microbial growth. (1974). Ed. p.s.s. Dawsen, Vol. 8. Pennsylvania; Dowden, Hutchinson and Ross Stroudsburg.

35- MYERS, J. (1962). Laboratory cultures. In: Physiology and Biochemistry of Algae, Ed. R.A. Lewin, pp. 603-613. New York; Academic press.

36- OGINSKY, E.L. and UMBREIT, W.W. (1959). An. Introduc- tion to Bacterial Physiology, 2nd edit. San Fran-cisco ; W.H. Freeman and Company.

37- OSER, B.L. (1975). Guidelines for the evaluation of Single cell protein for human consumption. In: Single Cell Protein, Eds. S.R. Tannenbaum and I.C. Wang, Vol. II., pp. 484-488. Cambridge Massachusetts; The MIT Press.

38- PAGE, R.M. (1965). The physical environment for fungal growth. In: The Fungi, An Advanced Treatise, Eds. G.C. Ainsworth and A.Sussman, Vol. 1, pp. 559-574. New York; Academic Press.

39- PATE, J.S. (1977). Functional biology of dinitrogen fixa-tion by legumes. In; A Treatise of Nitrogen Fixation, Ed. R.W.F. Hardy, Sec. III, pp. 473-517. New York; Wiley-Interscience publications.
40- PERLMAN, D. (1959). Microbial synthesis of cobamides. Advances in Applied Microbiology, 1, 87-122.
41- PERLMAN, D. (1965). The chemical environment for fungal growth. In: The Fungi, An Advanced Treatise, Eds. G.C. Ainsworth and A. Sussman, Vol. 1, pp. 479-489. New York; Academic Press.
42- PERLMAN, D. (1967). Production of polyene antifungal agents by Streptomycetes. In : Progress in Indust-rial Microbiology, Ed. D.J.D. Hockenhull, Vol. 6, pp. 3-20. London ; Heywood Books.
34- PERLMAN, D. (1967). Microbial Production of therapeutic compounds. In : Microbial Technology, Ed. H.j. Peppler, pp. 251-307. New Yoyk ; Reinhold publishing Corp.
44- POKROVSKY, A. (1975). Some results of SCP medicobiolog ical investigation. In : Single Cell Protein, Eds. S. R. Tannenbaum and I.C. Wang, Vol. II, PP. 475-483. Cambridge Massachusetts ; The MIT Press.
45- PROTEIN ADVISORY GROUP. (1975). PAG guideline for Preclinical testing of novel source of protein. In : Single Cell protein ,Eds. S.R. Tannenbaum and I.C. Wang, Vol. II, PP. 629-654. Cambridge Massachu- Setts ; The MIT Press.
46- RAINBOW, C. (1970). Brewer's Yeasts. In : The Yeasts, Eds. A.H. Rose and j.S. Harrison, Vol. 3, pp. 147-224. London ; Academic Press.
47- RAVEN, J.A. (1974). Carbon dioxide fixation. In : Botanical Monograph ; Algal Physiology and Biochemistry. Ed. W.D.P. Stewart, Vol. 10, pp. 434-449. London ; Blackwell Scientific publication.

ROSE, A.H. (1976). Chemical Microbiology, 3rd edit. London. Boston ; Butterworths.

SCRIMSHAW, N.S. (1975). Single cell Protein for human consumption. An overview. In : Single Cell Protein, Eds S.R. Tannenbaum and I.C. Wang, Vol. II., pp. 24-45. Cambridge Massachusetts ; The MIT press.

49- SILVER, W.S. (1977). Foliar associations in higher plants In. : A Treatise of Nitorgen Fixation, Ed. R.W.F. Hardy, Sec. III, pp. 153-184. New York ; Wiley-Intersicence publications.

50- SOEDER, C. and STENGEL, E. (1974). Physico-chemical factors affecting metabolism and growth rate. In Botanical Monograph ; Algal Physiology and Biochemistry Ed. W.D.P Stewart, Vol. 10, pp. 714-740. London ; Blackwell Scientific publication.

51- SOLOMONS, G.L. (1975). Submerged culture production of mycelial biomass. In : The Filamentous Fungi, Eds. J.E. Smith and D.R. Berry, Vol. 1, pp. 249-264. London ; Edward Arnold.

52- SOLS, A. GANCEDO, C. and DELAFUENTE, G. (1971). Energy yielding metabolism in yeasts Eds. A.H.Rose and J.S. Harrison Vol. 2, pp. 271-307. London ; Academic press.

53 Stanier, R. Y. Doudoyroff, M. and Adelberg, E. A. (1970). The Microbial World, 3rd ed. Englewood Cliffs, N.J. ; Prentice- Hall.

54-STEWART , W.D.P. (61977). Blue-Green Algae. In : A Treatise of Nitrogen Fixation, Ed. R.W.F. Hardy, Sec. III, pp. 65-123. New York; Wiley-Interscience publications.

54- SUBBA RAO, N.S. (1976). Nitrgen deficiency as a world-wide problem. In : A Treatise ofNitrogen Fixation, Ed. R.W.F. Hardy, Sec. IV, pp. 3-32. New York ; Wiley-Interscience publications.

55- TURNER, W.B. (1975). Commercially important secondary metabolites. In : The Filamentous Fungi, Eds. J.E. Smith and D.R. Berry, Vol, 1, pp. 122-139. London ; Edward Arnold.

56 - VINCENT, J.M. (1977). Rhizobium : General Microbiology. In : A Treatise of Nitrogen Fixation, Ed. R.W.F. Hardy, Sec. III, pp. 277-366. New York ; Wiley-Interscience publications.

57- WAKSMAN, S.A. (1963). The Actinomycetes and their Antibiotics. Ed. W.W. Umbreit, Vol. 5, pp. 235-315 New York ; Academic press.

58- YOCH, D.C. (1979). Electron- transport systems coupled to nitrogenase. In : A Treatise on Dinitrogen Fixation, Ed. R.W.F Hardy, Sec. I and II, pp. 605-652. New York ; Wiley- Interscience publications.

رقم الايداع في المكتبة الوطنية ببغداد (١١٧٢) لسنة ١٩٨٢

طبع بمطابع مديرية دار الكتب للطباعة والنشر بجامعة الموصل